



**UNIVERSIDAD DE SEVILLA**

**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESTUDIO HISTOMORFOMETRICO DE LA  
OSEOINTEGRACION DE IMPLANTES  
CON DIFERENTES SUPERFICIES EN  
CONEJOS NUEVA ZELANDA**

**Tesis Doctoral**

**Jesús Moreno Muñoz**

**Sevilla, 2017**

## **DEDICATORIA**

A mis padres, Jesús y Reyes

A Carmen

## **AGRADECIMIENTOS**

A los Profesores Eugenio Velasco Ortega, y Alvaro Jiménez Guerra de la Facultad de Odontología y del Máster de Implantología Oral de la Universidad de Sevilla, que han dedicado un tiempo importante en la dirección del presente estudio doctoral con sus conocimientos y revisiones sobre el tema.

A todos los profesores de la Unidad Docente de Odontología Integrada de Adultos y del Máster de Implantología Oral de la Facultad de Odontología de Sevilla, Enrique Núñez Márquez, Antonio España López, Loreto Monsalve Guil, Nuno Matos Garrido, Iván Ortiz García, Ramón Medel Soteras, Angel García Méndez y Carmen Velasco Ponferrada.

Al profesor Francisco Javier Gil Mur de la Universidad Internacional de Cataluña, en cuyo laboratorio se realizó el estudio experimental necesario para la elaboración del presente trabajo de investigación doctoral.

Sevilla, Septiembre de 2017

EUGENIO VELASCO ORTEGA, Profesor Titular de Odontología Integrada de Adultos de la Facultad de Odontología y Director del Máster de Implantología Oral de la Universidad de Sevilla.

ALVARO JIMENEZ GUERRA, Doctor en Odontología y Profesor del Máster de Implantología Oral de la Universidad de Sevilla.

CERTIFICAN:

Que D. JESUS MORENO MUÑOZ, Licenciado en Odontología por la Universidad de Sevilla, ha realizado bajo nuestra tutela y dirección el trabajo titulado **Estudio histomorfométrico de la oseointegración de implantes con diferentes superficies en conejos Nueva Zelanda** que consideramos satisfactorio como Tesis Doctoral.

Prof. E.VELASCO ORTEGA

Prof. A. JIMENEZ GUERRA

# INDICE

INTRODUCCIÓN	1
<b>1. Evolución de la implantología</b>	<b>2</b>
1.1. Oseointegración	3
1.2. Interfase	7
<b>2. Tejido óseo</b>	<b>10</b>
2.1. Fisiología del tejido óseo	11
2.2.1. Formación ósea	14
<b>3. Superficie de implantes</b>	<b>19</b>
3.1. Mecanismos de anclaje	26
3.1.1. Unión mecánica	27
3.1.2. Unión bioquímica	27
3.2. Modificaciones de superficie de implantes dentales	28
3.2.1. Topográficas	35
3.2.1.1. Superficie mecanizada	35
3.2.1.2. Superficies rugosas	36
3.2.1.2.1. Spray de plasma de titanio (TPS)	36
3.2.1.2.2. Arenado y grabado ácido	37
3.2.2. Químicas	40
3.2.2.1. Fluoradas	40
3.2.2.2. Hidroxilación de óxido de titanio	41
3.2.2.3. Anodización electroquímica	42
3.2.3. Revestimiento de cerámicas bioactivas	42
3.2.4. Nanosuperficies	46
3.2.5. Superficies bioactivas	50
3.2.6. Superficie grabada con ácidos	51
 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	 59

MATERIAL Y METODOS	63
1. <b>Implantes</b>	64
2. <b>Animales</b>	66
3. <b>Técnica quirúrgica</b>	67
4. <b>Recuperación y técnica histológica</b>	69
5. <b>Evaluación</b>	71
6. <b>Método estadístico</b>	72
7. <b>Comité ético</b>	72
RESULTADOS	73
1. <b>Evaluación macroscópica</b>	74
2. <b>Evaluación histológica</b>	74
2.1. Respuesta biológica	74
2.2. Histomorfometría	74
2.3. Imágenes histológicas y valores histomorfométricos	79
DISCUSION	90
CONCLUSIONES	102
BIBLIOGRAFIA	104

# **INTRODUCCION**

### 1.EVOLUCIÓN DE LA IMPLANTOLOGÍA

Desde tiempos inmemoriales, el ser humano ha deseado reponer las piezas perdidas. Se sabe que 9000 años, durante el Neolítico, se realizó una implantación necrópsica <sup>1</sup>. El hallazgo tuvo lugar en FaidSouard, Argelia, donde el cráneo de una mujer presentaba un fragmento de falange en el lecho alveolar de un segundo premolar superior.



También hay vestigios antropológicos de implantes dentales colocados *in vivo* correspondientes a la cultura Maya (300 a 900 dC), donde se encontraron conchas marinas en los alveolos a modo de implantes, presentando indicios de regeneración ósea <sup>2-4</sup>.

Posteriormente, durante la edad media, se plantea la reimplantación dental en el mismo lecho con la ayuda de una ferulización con alambre de oro, tal y como plantea Abulcasis en su obra Al-Tasrif <sup>3</sup>. Es en la época medieval en la que los cirujanos-barberos, exigidos por los nobles y militares de rango, pusieron de moda el trasplante dentario, usando como donantes a plebeyos, sirvientes y soldados. Algunos autores como Duval en el siglo XVII, pondrían en práctica la técnica del autotransplante realizando la extirpación de la pulpa y sustituyéndola por plomo u hojas de oro. Esta



## INTRODUCCION

técnica seguiría en auge hasta el siglo XIX, cuando decaería por cuestiones éticas y la transmisión de enfermedades, sería entonces cuando empezarían a surgir los primeros implantes metálicos como los que colocaría Maggiolo en 1809 en alveolos de dientes recién extraídos, usando como material el oro.

En 1910, Greenfield utilizaría una cesta de iridio y oro que colocaría en un alveolo, y algunos autores lo consideran como el científico que documentó las bases de la implantología moderna, ya que en 1915 hacía referencia a normas sanitarias de limpieza y esterilidad e introdujo conceptos como la necesidad de una íntima asociación hueso implante antes de pasar a la siguiente etapa, describiendo el concepto de implante sumergido, la inmovilidad del tejido bucal y la inmovilidad del implante, aconsejando un periodo de 3 meses sin carga.

En la década de los 40 se produjo un desarrollo en la aplicación de materiales <sup>4</sup> permitiendo que surgieran dos escuelas: la subperióstica del sueco Dahl, que no pudo desarrollar sus trabajos por prohibición de las autoridades sanitarias, y la yuxtaósea desarrollada por Formiggini, con implantes en espiral con tantalio y vitalio.

### 1.1. OSEOINTEGRACIÓN

En 1952 el profesor Per-Ingvar Brånemark comenzó a realizar una investigación con estudios microscópicos in-vitro de la médula ósea del peroné de conejo para conocer mejor la vascularización tras traumatismos óseos. El estudio se llevó a cabo introduciendo una cámara óptica en el hueso del conejo, al ir a retirar ésta era imposible, ya que el titanio se había

## INTRODUCCION

incorporado al hueso, formando un anclaje en el hueso capaz de satisfacer las exigencias clínicas de funcionamiento como pilar de prótesis, hecho al que se denominó osteointegración <sup>5,6</sup>.

La oseointegración fué definida en 1977 como una conexión directa tanto estructural como funcional, entre el hueso vivo y la superficie de un implante preparado para soportar una carga, y ha sido la base del tratamiento implantológico para la terapia en pacientes edéntulos totales o parciales. No debe existir por tanto, ningún movimiento entre el implante y el hueso circundante, consiguiendo una integración física o mecánica que le confiere una buena resistencia a fuerzas de tracción (compresión), pero una baja resistencia a fuerzas de tensión (cizalla), que son perpendiculares u oblicuas al hueso que rodea al implante. En 1993, Zarb y Albrektsson <sup>7</sup> definieron la osteointegración desde un punto de vista bioquímico y dinámico como un proceso en el cual se produce una fijación rígida en materiales aloplásticos de forma asintomática y manteniendo el hueso durante la carga funcional.

Según Branemark <sup>5</sup>, la oseointegración está basada en una coexistencia estructural y funcional continua; así como una simbiosis, entre un material aloplástico y tejidos vivos. La oseointegración no es un fenómeno aislado sino que es dependiente de procesos típicos de la morfología ósea como la osteoinducción y la osteoconducción. Por otra parte Schroeder y cols. en 1976 <sup>8</sup> describió la osteointegración como una anquilosis funcional en la interfase implante-hueso, formada durante el periodo de cicatrización, desde la colocación de la fijación, hasta incluir el periodo postintegración.

## INTRODUCCION

Se han descrito tres tipos diferentes de anclaje de los implantes al tejido:

1. Fibrointegración, consistente en el depósito de tejido fibroso pobremente diferenciado entre el hueso y la superficie del implante, reacción que se produce frecuentemente como consecuencia de una preparación traumática del hueso, especialmente por sobrecalentamiento óseo por el fresado.
2. Fijación por un ligamento organizado alrededor del implante, de forma similar a la interfase entre la raíz del diente y hueso circundante. Esta unión sólo había sido hallada experimentalmente en animales en 1990 por Buser <sup>9</sup>, aunque otros autores como Warrer <sup>10</sup> en 1993, encontraron cemento de nueva formación depositado sobre la superficie del implante evidenciando el fenómeno de oseointegración.
3. Oseointegración, entendida como la aposición directa de hueso en la superficie del implante, y aceptada como modelo de anclaje de éxito clínico a largo plazo.

Inicialmente, la terapia con implantes se comenzó a utilizar exclusivamente para rehabilitar a pacientes edéntulos totales mandibulares, situación que aún supone una de las mayores aplicaciones de los mismos en la práctica odontológica actual. Los casos de edentulismo total suelen presentar una reabsorción ósea importante, y debido a esa escasez de tejido es difícil retener las prótesis removibles convencionales, ya que esta retención se basa en la relación entre la superficie de la prótesis con los tejidos blandos mandibulares. Posteriormente la aplicación de los implantes

## INTRODUCCION

dentales se ha diversificado empleándose expandiendo su uso a maxilar superior, tanto en pacientes edéntulos totales como parciales, ya sean ausencias unitarias o tramos edéntulos. El desarrollo de la implantología ha permitido expandir las regiones susceptibles de ser tratadas con implantes a otras de mayor dificultad clínica, siempre que las condiciones anatómicas y clínicas lo permitan, como son la zona del hueso pterigoideo, la tuberosidad del maxilar o el hueso zigomático.

La terapia implantológica ha permitido que pacientes con ausencias dentales mejoren la función masticatoria, el habla y la estética, lo que ha permitido que la aceptación del tratamiento con implantes sea cada vez mayor. Según Misch y cols.<sup>11</sup>, los parámetros que mejoran con la terapia implantológica son los siguientes:

1. Mantenimiento del volumen óseo.
2. Mejor disposición tridimensional de las piezas dentales.
3. Conservación de la dimensión vertical.
4. Correcta relación oclusal.
5. Transmisión directa de las cargas oclusales.
6. Tasa de éxito mayor.
7. Mejor fonética.
8. Mejora en la función masticatoria.
9. Fuerza oclusal aumentada.
10. Estabilidad y retención mejoradas.
11. Mejor percepción de la posición dental y de las fuerzas oclusales.
12. Importante aumento de la satisfacción psicológica.

## INTRODUCCION

Es fundamental, para obtener un éxito clínico en los tratamientos implantológicos, que se produzca un contacto íntimo y directo entre hueso y superficie del implante, que el dispositivo se oseointegre. Autores como Valderrama y cols.<sup>12</sup> destacan la importancia de conocer las características fisicoquímicas y topográficas de la superficie del implante, para poder mejorar la respuesta del tejido huésped.

La oseointegración ha supuesto una revolución en la odontología clínica restauradora. La aplicación de implantes orales ha abierto un campo de investigación en las ciencias odontológicas, realizándose estudios para el desarrollo de nuevos materiales de aplicación clínica, como para la modificación y mejora de las superficies implantarias, así como para ampliar en el conocimiento del comportamiento del tejido óseo que se pondrán en contacto con el implante. El hueso es un tejido con una morfología y dinámica compleja, y gracias al desarrollo de métodos de estudio de las propiedades de las células óseas en cultivo se han obtenido puntos de vista coherentes sobre la regulación metabólica del mismo. El déficit de volumen de tejido óseo es uno de los problemas más destacables que puede presentar la rehabilitación del paciente parcial o totalmente edéntulo<sup>11</sup>.

### 1.2. INTERFASE

El linaje celular osteoprogenitor, responsable de la formación de nuevo hueso, deriva de progenitores mesenquimales situados en la médula ósea, la cual aporta también los vasos sanguíneos necesarios para la formación de nuevo hueso, así como los precursores mononucleares de los osteoclastos, necesarios para la remodelación del tejido. Por ello, el hueso

## INTRODUCCION

trabecular se remodela más rápidamente que el cortical, lo que, desde una perspectiva biológica justifica la afirmación de que en la cicatrización ósea periimplantaria, el hueso trabecular es biológicamente mejor que el lentamente remodelante hueso cortical, el cual merece por ello, y en este contexto, el calificativo de hueso de pobre calidad, en contraposición al calificativo que ha merecido en la precitada clasificación clínica <sup>13</sup>.

La colocación de un implante implica la construcción de un lecho óseo tallado con brocas de tamaño creciente, lo que ocasiona un traumatismo térmico y mecánico al tejido receptor. Si este traumatismo es moderado, el tejido óseo va a responder de forma escalonada, mediante fenómenos de inflamación, reparación y remodelación. Inicialmente, el hoyo creado con la osteotomía se va a llenar con un coágulo sanguíneo, el cual va a ser desalojado durante la introducción del implante. Tras su inserción, la superficie del dispositivo va a absorber biomoléculas (fibrina, fibronectina, vitronectina, etc.), a través de las cuales las células osteoformadoras van a migrar y se van a adherir a la superficie del implante<sup>11</sup>.

Los osteoblastos sintetizan matriz ósea, la cual posteriormente se calcifica englobando a las células que la han formado. Estas células pueden depositar nuevo hueso sobre la superficie del implante o sobre el hueso vecino preexistente, según los fenómenos de osteogénesis por contacto y a distancia<sup>14</sup>.

Inicialmente la oseointegración fue definida mediante la descripción de la interfase hueso-implante a nivel de microscopía óptica, si bien poco después fue vista desde una perspectiva clínica, en la que un implante

## INTRODUCCION

aloplástico se fija rígidamente al hueso y esta situación se mantiene en el tiempo, de forma asintomática, en condiciones de carga funcional<sup>15</sup>. Pues bien, la carga de los implantes puede realizarse en diferentes momentos temporales tras su instalación. Y ello es irrelevante desde el punto de vista biológico, siempre y cuando el proceso descrito no se vea interferido o impedido, ya que de ser así, en lugar de una interfase tejido óseo implante, se formará una unión tejido conectivo-implante, circunstancia bautizada antiguamente con el eufemismo de fibrointegración, por ser considerada como una imitación del ligamento periodontal que une los dientes al hueso alveolar. Sin embargo, ni estructural ni funcionalmente, este tejido conectivo resiste la más leve comparación con el tejido periodontal altamente organizado, de ahí que tal desenlace sea considerado un fracaso terapéutico<sup>15</sup>.

Según Echevarría y cols.<sup>16</sup>, los siguientes aspectos pueden explicar la falta de oseointegración y el desarrollo de una interfase fibrosa:

- La carga prematura del sistema (antes de los 3 meses para la mandíbula y antes de 6 meses para el maxilar).
- La invaginación del epitelio.
- El calentamiento del hueso durante la preparación quirúrgica (más de 47°C es perjudicial).
- La colocación del implante con un exceso de presión que ocasiona necrosis ósea.
- El implante no se ajusta al alvéolo artificial de forma exacta (necesita 0,5mm o menos espacio).

## INTRODUCCION

La oseointegración puede verse inhibida por varios factores como son la contaminación del implante o un excesivo micromovimiento. De acuerdo con Meredith y cols.<sup>17</sup>, el fallo de un implante se puede caracterizar por la movilidad clínica, una pérdida ósea severa alrededor del implante, o una fractura del mismo.

## 2. TEJIDO ÓSEO

El hueso es un tejido conectivo especializado vivo, vascularizado y dinámico, compuesto por células especializadas (osteoblastos, osteocitos y osteoclastos) incardinadas en una matriz extracelular calcificada, con un componente orgánico cuyo 90% es colágeno tipo I y el 10 % restante proteínas no colágenas como osteocalcina, osteonectina, sialoproteína, factores de crecimiento y proteínas séricas, y con un contenido inorgánico de cristales de hidroxapatita, que en su unión con las fibras colágenas confiere al hueso rigidez, flexibilidad y resistencia<sup>8</sup>.

La evolución de este tejido es, obviamente, más antigua que la de la propia especie humana, aceptándose que el origen de nuestro cráneo puede ser rastreado hacia el pasado hasta la irrupción en la Tierra de los protopeces o de los ciclóstomos, hace al menos 540 millones de años<sup>8</sup>. En consecuencia, los implantes dentarios actuales, con sus refinados y avanzados macro y microdiseños han evolucionado a lo largo de un lapso temporal incomparablemente menor que el del tejido que los sustenta, el cual está organizado en dos formas macroarquitecturales diferentes, combinadas en mayor o menor medida en los distintos huesos del cuerpo: el hueso trabecular o esponjoso y el hueso cortical o compacto.



## INTRODUCCION

De esta subdivisión se ha derivado una clasificación clínica que distingue cuatro calidades óseas, dispuestas entre la I, en la que casi todo el hueso maxilar está compuesto por hueso compacto homogéneo y la IV, en la que bajo una fina capa de hueso cortical se encuentra un núcleo de hueso esponjoso de baja densidad. Esta última ha sido definida, con un criterio exclusivamente clínico, como hueso de pobre calidad, debido a que en ella, los primitivos implantes de superficie mecanizada exhibían un resultado frecuentemente insatisfactorio. Sin embargo, esta deficiente utilidad clínica no se corresponde con una mala calidad ósea desde una perspectiva biológica<sup>9</sup>.

### 2.1. FISIOLÓGÍA DEL TEJIDO ÓSEO

En cualquier momento de la vida, entre el 3 y el 5% del esqueleto está siendo remodelado, es decir, reabsorbido por osteoclastos y sustituido por nuevo hueso aportado por los osteoblastos, si bien este proceso es más intenso y rápido durante el crecimiento esquelético, en el estadio denominado modelación, se producen grandes cambios, siendo este estadio el determinante de la longitud y grosor final del hueso y del desarrollo final de la cavidad medular por resorción del endostio <sup>18</sup>.

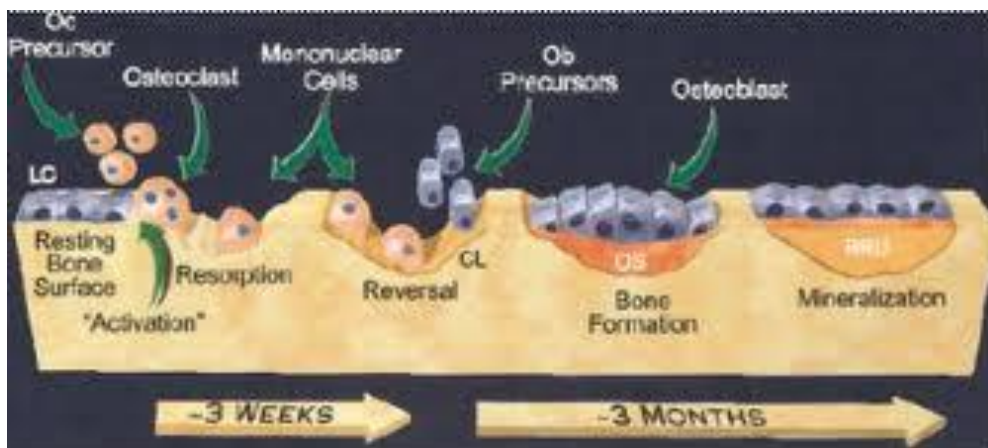
La actividad metabólica continua implica una renovación del 3-4% del hueso cortical y del 25-30% del trabecular en un plazo de 10 años. Esta actividad remodeladora permite que el sistema esquelético tenga una capacidad regenerativa y de adaptación funcional. Este proceso de sustitución remodeladora que comienza a las seis semanas de vida intrauterina y se perpetúa hasta la muerte del individuo, permitiendo que la masa ósea se mantenga prácticamente invariable en la juventud, y

## INTRODUCCION

tendiendo hacia la reabsorción con el envejecimiento y determinadas patologías, produciendo una reducción del volumen y calidad ósea que es más acusada en hueso trabecular.

Este proceso de remodelación constituye la base biológica responsable de que, bajo ciertas circunstancias, el tejido óseo pueda regenerarse con tejido idéntico al original, sin reparación con tejido fibroso, lo que representa el fundamento biológico que permite la oseointegración de los implantes dentarios, independientemente del momento de carga de los mismos.

El proceso de remodelado se realiza por los distintos tipos de células óseas, presentando un frente de osteoclastos seguido por un grupo osteoblastos, un aporte vascular y nervioso y tejido conectivo. Este proceso está regulado por factores del microambiente óseo, influyendo fuerzas mecánicas locales, factores hormonales y cambios óseos como consecuencia del envejecimiento o la fatiga. El proceso de remodelación ósea en 4 fases diferentes y sucesivas: activación, resorción, inversión y formación.



## INTRODUCCION

La activación se inicia con el reclutamiento de precursores mononucleares de la serie premonocítica de la médula y la sangre circundante, cuyas vías de señalización no se conocen completamente. A continuación, los precursores de la serie monocito macrófago se diferencian a osteoclastos en la superficie ósea o en su proximidad en un proceso denominado osteoclastogénesis gracias a la acción de 2 factores hematopoyéticos CSF 1 y RANK-L, que se encarga de inducir la expresión de los genes propios de la estirpe osteoclástica como son catepsina k y TRAP<sup>19</sup>.

Debido a la activación de RANK y su ligando específico, el osteoclasto se polariza y cambia su estructura para prepararse para el proceso de resorción, como la reordenación del citoesqueleto y la formación de una zona de sellado entre su membrana basal y la superficie de resorción. Una vez diferenciados, los osteoclastos liberan enzimas proteolíticas e hidrogeniones, favoreciendo la creación de un pH ácido necesario para la activación de tales enzimas. El medio ácido favorece la desmineralización de la matriz ósea para su degradación posterior por medio de las enzimas proteolíticas. Entre las principales enzimas expresadas por los osteoclastos nos encontramos la catepsina K y la fosfatasa ácida resistente al tartrato. Los productos de degradación se procesan en el interior de las células osteoclásticas y se liberan a la circulación posteriormente<sup>19</sup>.

Tras la resorción, los osteoclastos se ven sometidos a un proceso de apoptosis que está regulado por diversos factores entre los que destaca TGF  $\beta$ , que además inhibe la apoptosis de los osteoblastos. A continuación, los

## INTRODUCCION

precursores de los osteoblastos son atraídos hacia la zona que ha sufrido el proceso de resorción gracias a distintos factores quimiotácticos liberados previamente en la matriz ósea como TGF  $\beta$ , colágeno tipo I, PDGF e IGF I y II. Las células mesenquimales pluripotenciales precursoras de osteoblastos se diferencian por medio de la activación de distintos genes como el de la fosfatasa alcalina, la osteocalcina o el colágeno tipo I, proceso mediado por IGF I y BMP-2. Esta fase de formación integra a su vez dos procesos: la síntesis de osteoide, tejido óseo nuevo sin mineralizar, y la fase posterior de mineralización <sup>20</sup>.

Tras finalizar el proceso de formación, la mitad de los osteoblastos sufren un fenómeno de apoptosis y el resto se convierte en células de superficie que recubren el hueso neoformado o quedan enterrados en el tejido óseo pasando a transformarse en osteocitos, los cuales conectan entre sí y con las células de superficie gracias a un sistema de canales formado por prolongaciones citoplasmáticas.

### 2.1.2 FORMACIÓN ÓSEA

Para la formación ósea es necesario, además del reclutamiento y la migración de poblaciones celulares con potencial osteogénico, la diferenciación de dicha población celular en una estirpe de células secretoras maduras. Durante el proceso de cicatrización de los tejidos periimplantarios, las células con potencial osteogénico migran a través del coágulo sanguíneo, que debe encontrarse retenido sobre la superficie implantaria, gracias al lecho quirúrgico preparado durante el fresado.

## INTRODUCCION

Una vez llegan a la superficie del implante, las células comienzan a sintetizar la matriz en la superficie sólida. Las células que se diferencian antes de llegar a la superficie secretan la matriz osteoide, debido a lo cual interrumpirán su migración y no podrán alcanzar la superficie del implante, en lugar de eso quedarán envueltas por su propia secreción. En base a este proceso, la osteoconducción se manifiesta como una espícula ósea que avanza hacia la superficie diana que en este caso es el implante. Una vez diferenciados, los osteoblastos que secretan matriz osteoide de forma activa serán transferidos como resultado de la propia secreción de matriz, o serán englobados en la matriz que generan dando lugar a osteocitos.

Un proceso distinto a la osteoconducción es el crecimiento aposicional, consistente en la traslocación de osteoblastos polarizados que tienen actividad secretoria activa. Por todo ello, la formación ósea en las fases de cicatrización y remodelación engloba dos procesos diferenciados: la formación ósea de novo y la formación ósea aposicional. De este modo, los mecanismos que desencadenan la formación ósea, incluyen tanto el reclutamiento como la replicación de precursores mesenquimales de osteoblastos, localizados en el periostio y en la médula ósea próxima al endostio, la diferenciación de dichos precursores a osteoblastos ya maduros, y regulan su actividad.

Las propiedades de los osteoblastos, además de la síntesis de matriz osteoide en diferentes localizaciones del tejido óseo, son diversas:

- Síntesis de colágeno tipo I (COL-I), osteopontina (OPN), osteonectina, osteocalcina (OCN), sialoproteína ósea (BSP) y marcada

## INTRODUCCION

actividad fosfatasa alcalina (ALP); respondiendo a factores de crecimiento y hormonas como la paratohormona (PTH).

- Algunas de sus propiedades se modifican en función de los distintos grados de maduración. En el osteoblasto maduro disminuye la síntesis de colágeno tipo I. Cuando se alcanza cierto grado de mineralización ósea decrece la actividad de la fosfatasa alcalina. Antes de la aparición de proteínas de la matriz como la sialoproteína ósea y la osteocalcina, aparece la osteopontina; no obstante, será la sialoproteína la que antes se detecte junto con osteoblastos diferenciados encargados de formar tejido óseo; y la osteocalcina estará asociada a la mineralización.

Una vez se ha formado el hueso nuevo hay una continuidad en la actividad de síntesis de los osteoblastos. En las localizaciones donde el tejido es continuo, se produce un cese provisional de secreción de matriz, que en el crecimiento aposicional está marcado por líneas remanentes, mientras que en la formación de hueso de novo la llegada de nuevas células a la superficie contraria lo hará la secreción de una línea cementicia.

La formación de hueso de novo está determinada por una serie de eventos biológicos que ocurren al inicio de la formación de nuevo hueso por la población de células nuevamente diferenciadas en células osteogénicas. Estas células son las que desempeñan el papel más importante entre las encargadas en la formación ósea en lechos implantarios, creando una estructura de andamiaje para la formación del nuevo tejido óseo.

## INTRODUCCION

Trisi y cols <sup>21</sup> realizaron un estudio sobre implantes retirados tras un periodo de 20 años desde su colocación debido, no a fallos en la osteointegración, sino a fracturas del cuello del implante, creando unas preparaciones del implante con el hueso circundante para poder analizarlas bajo el microscopio óptico y el microscopio electrónico de barrido (MEB). Evidenciaron la existencia de contacto directo en parte de la superficie implantaria, presentando huecos de grosor constante (1 – 5  $\mu\text{m}$ ).

En el fragmento de tejido óseo, el borde presentaba hueso calcificado con una capa de 1  $\mu\text{m}$  de tejido orgánico no calcificado localizado en algunas áreas, con similitudes con el tejido osteoide. En pequeñas zonas de la superficie del implante se observaron fragmentos de hueso calcificado anclados de forma directa a la superficie de titanio. Encontraron también una lámina electrondensa en la interfase hueso-implante. En la porción ósea, el borde estaba representado por tejido óseo calcificado con una capa orgánica y no calcificada de 1  $\mu\text{m}$  de grosor, con similitudes respecto al tejido osteoide, interpuesto en algunas zonas. En algunas localizaciones de la superficie del metal, se encontraron fragmentos de tejido óseo calcificado directamente anclados a la superficie del titanio<sup>21</sup>.

Se observó también una lámina electrondensa en la interfase ósea y osteocitos muy próximos a la superficie del implante. A un aumento mayor se hallaron pequeños canalículos óseos desde la interfase hasta los propios osteocitos. El hallazgo de estos pequeños canales en la porción ósea de la interfase hueso implante gracias a la microscopía electrónica de barrido refuerza la hipótesis de un contacto directo entre los canalículos de los osteocitos con la superficie de titanio del implante<sup>21</sup>.

## INTRODUCCION

El mantenimiento de las características mecánicas del tejido óseo es considerado el objetivo principal del proceso de remodelación ósea, mediante la sustitución de zonas dañadas por nuevo hueso. Al mismo tiempo se encarga de la organización espacial del hueso según la carga mecánica experimentada en cada instante, que ayuda a la homeostasis mineral y de forma significativa al balance fósforo-calcio<sup>14</sup>.

La resorción realizada por los osteoclastos es un proceso que se encarga de estimular la síntesis de nuevo hueso por los osteoblastos adyacentes. Este fenómeno denominado acoplamiento se regula por citoquinas a través del sistema OPG-RANKL. La expresión coordinada de OPG y RANKL regula la resorción de manera tanto positiva como negativa controlando la activación de RANK en los osteoclastos. En la coordinación del proceso de remodelación son también fundamentales los mecanismos intercelulares de señalización que permiten sincronizar sus acciones, difundir señales autocrinas y coordinar respuestas a estímulos hormonales. Estudios recientes destacan la importancia de las integrinas en el proceso de osteogénesis, en la transmisión de estímulos mecánicos entre osteoblastos y osteocitos y en la regulación de la apoptosis especialmente en la inducida por bisfosfonatos <sup>22-23</sup>.

En los últimos años se ha producido un gran avance en el conocimiento de los factores que intervienen en la regulación del proceso de remodelado, a pesar de lo cual quedan por aclarar muchos aspectos. Su regulación es compleja ya que integra diversos estímulos como son factores genéticos, mecánicos, vasculonerviosos, nutricionales, hormonales y factores locales. Muchos de estos factores ejercen efecto sobre osteoblastos y osteoclastos, o bien actúan estimulando a su vez una cascada de señales.



## **INTRODUCCION**

Debido a su importancia nos centraremos exclusivamente en los factores locales, entre los que destacan los factores de crecimiento, las citoquinas y recientemente se han implicado las proteínas de la matriz ósea, como moduladoras de la acción de otros factores locales. Las células del hueso también juegan un papel importante por la producción de prostaglandinas y óxido nítrico, así como de citoquinas y factores de crecimiento<sup>22</sup>.

La formación de hueso es un proceso complejo que incluye la migración y proliferación de las células mesenquimales primitivas, la diferenciación de las células precursoras como son los preosteoblastos, la maduración de éstos, la formación de la matriz osteoide y finalmente la mineralización del hueso. La osteogénesis es controlada a múltiples niveles, entre los que se distinguen la diferenciación de osteoblastos, proliferación y formación de la matriz. Los ciclos secuenciales de formación y resorción del hueso están controlados por factores de crecimiento secretados localmente. Se consideran factores de crecimiento a las moléculas con la misma actividad, pero que actúan o son sintetizadas por otros tipos celulares. Son polipéptidos producidos por las propias células óseas o en tejidos extraóseos, que actúan como moduladores de las funciones celulares, fundamentalmente sobre el crecimiento, diferenciación y proliferación celular.

### **3. SUPERFICIES DE IMPLANTES**

Con el tiempo, y gracias a las altas tasas de éxito, los pacientes fueron demandando mayor celeridad a la hora de realizar los tratamientos.

## INTRODUCCION

Lederman <sup>24</sup> en 1979 es el primero en introducir el concepto de carga inmediata mediante la utilización de implantes con superficie tratada con plasma de titanio, obteniendo una supervivencia del 91,2% con un seguimiento a 81 meses. Publica los primeros estudios sobre la carga inmediata en implantes dentales. Ferulizaba cuatro implantes intermentonianos con una barra y colocaba la prótesis en el mismo día de la intervención.

En la actualidad, la carga inmediata es aquella que se produce dentro de las 48-72 horas siguientes a la inserción del implante, y es aquí donde el diseño del implante puede afectar significativamente a los resultados a corto y largo plazo. Desde una perspectiva del diseño del implante, dos enfoques, incluyendo el campo de los biomateriales y/o la biomecánica, han sido los más utilizados: el diseño del cuerpo del implante y las modificaciones de superficie<sup>25</sup>.

La superficie del implante es el primer componente en entrar en contacto con el huésped y las modificaciones de superficie se han investigado para tratar de incrementar la tasa de remodelación ósea y permitir la carga inmediata de los implantes<sup>26</sup>. Incrementando la biocompatibilidad de la superficie y sus propiedades osteoconductoras podría promoverse una mejor curación y aposición ósea que lleve a una rápida fijación de los implantes al hueso. La texturización de superficie a través de distintas técnicas o la incorporación de cerámicas bioactivas como cobertura de superficie favorecen el anclaje óseo y la estabilidad biomecánica <sup>27-37</sup>.

## INTRODUCCION

Inmediatamente después de la colocación del implante ocurren una serie de eventos entre el receptor y la superficie del implante<sup>38</sup>. Inicialmente encontramos una interacción entre la sangre y la superficie del implante, donde las proteínas y los ligandos son adsorbidos, a través de un proceso inflamatorio que es seguido por una formación inicial de hueso alrededor del implante (modelado) y a través de numerosos ciclos de remodelado, donde el hueso que rodea el implante obtiene su mayor grado de organización y propiedades mecánicas<sup>39</sup>. Debido a la naturaleza dinámica de la interfase hueso-biomaterial, así como del tiempo de oseointegración, los biomateriales deben tener biocompatibilidad a corto y largo plazo y propiedades biofuncionales. Diferentes métodos de modificación utilizados en la ingeniería de superficie pueden guiar a diferentes propiedades físico-químicas que pueden producir cambios en la respuesta huésped-implante, debiendo tener en cuenta el proceso de osteointegración a nivel de biocompatibilidad y osteoconducción.

Antes de los ensayos clínicos, los nuevos biomateriales (incluidas las modificaciones de superficie) deben someterse a evaluaciones *in vitro* e *in vivo* que tienen un desarrollo jerárquico donde los test *in vitro* dan paso a experimentos de laboratorio *in vivo* para terminar con ensayos clínicos en humanos. Esta aproximación jerárquica permite que las nuevas modificaciones de superficie se comparen con otras previas y si no obtienen al menos un rendimiento equivalente, se evita seguir consumiendo recursos en desarrollar protocolos clínicos.

Los tests *in vitro* evalúan los efectos de nuevas superficies frente a superficies de control en cultivos celulares, los cuales permiten hacer un seguimiento celular a nivel de morfología, adhesión, migración,

## INTRODUCCION

proliferación o muerte a causa de la función de potenciales agentes tóxicos derivados del biomaterial<sup>38</sup>. Estos tests son útiles para una evaluación previa a nivel de seguridad y biocompatibilidad, pero los resultados obtenidos en los cultivos celulares no han podido relacionarse completamente con estudios in vivo, ya que no consiguen representar el ambiente dinámico hueso-biomaterial, por lo que debe tomarse como especulación el comportamiento celular. La validación debe llegar a través de modelos animales y subsecuentes ensayos clínicos. Las modificaciones de superficie a través de procesos químicos pueden llevar a la producción de productos potencialmente tóxicos para las células, por ello se incluyen controles positivos y negativos con líneas celulares establecidas y protocolos estandarizados y se estudian funciones como la adhesión, migración, proliferación, síntesis y deposición de compuestos químicos de matriz extracelular. El conocimiento de las moléculas de señalización celular inducidas por biomateriales es estratégico para el diseño de dispositivos, como por ejemplo la función de los macrófagos y monocitos en la reacción de cuerpo extraño o la respuesta específica de osteoclastos y osteoblastos<sup>40</sup>.

Aunque la seguridad de los biomateriales se testa actualmente en ensayos in vitro, se está buscando desarrollar modelos más representativos y predictivos como cultivos en órganos que presenten un contenido celular y una arquitectura similar al tejido huésped. El cultivo de estructuras óseas requiere el mantenimiento a nivel tridimensional y de su contenido celular y extracelular en el laboratorio. Además del mantenimiento del contenido biológico, deben mantenerse las características fisiológicas, esto implica una serie de dificultades que limita el uso de estructuras óseas cultivadas en estudios de integración en tejidos duros, ya que requiere el mantenimiento

## INTRODUCCION

a largo plazo de los cultivos. A pesar de las limitaciones actuales, los desarrollos permitirán pronto que los cultivos celulares sean más representativos de los escenarios *in vivo*, expandiendo las evaluaciones *in vitro* más allá de cuestiones seguridad, imitando las condiciones de test *in vivo* disminuyendo el tiempo, coste y las cuestiones regulatorias relacionadas con los protocolos de investigación animal<sup>40</sup>.

Tras los test *in vitro* para comprobar la seguridad de las nuevas superficies, los modelos de laboratorio *in vivo* son el siguiente paso en el complejo de pruebas de biocompatibilidad.

Varios modelos animales y protocolos quirúrgicos han sido utilizados para evaluar la respuesta del huésped a implantes osteointegrados<sup>41, 42</sup>. A pesar de la vasta literatura relacionada, variaciones en la cicatrización y la cinética de la curación ósea debida a las propiedades fisiológicas de distintas zonas de quirúrgicas y diferentes especies animales, no han sido suficientemente caracterizadas para establecer una comparación directa entre modelos animales.

Las especies más utilizadas son ratas, conejos, ovejas, perros, cerdos y primates. Los atributos a tener en consideración son la similitud con humanos bajo determinadas condiciones fisiológicas y patológicas, así como la disponibilidad de un gran número de especímenes a lo largo del tiempo<sup>43</sup>. Otras consideraciones son la aceptación de la sociedad, coste, edad, tamaño (para estudios comparativos con múltiples implantes), tolerancia a la cirugía y cautiverio, alojamiento. De forma específica a los estudios de interfase hueso-implante deben tenerse en cuenta la macro y

## INTRODUCCION

microestructura ósea y la cinética de modelado y remodelado óseo para extrapolar los resultados a los humanos.

Debido a su relativo bajo coste, su facilidad de manejo, y la substancial cantidad de datos publicados previamente, los conejos han sido el modelo más utilizado para estudios de interfase hueso-implante, el mayor inconveniente que presentan es su pequeño tamaño, por lo que los huesos más comúnmente usados para los estudios comparativos son la tibia y el fémur. Hay diferencias significativas en la macroestructura ósea (especialmente en la cantidad de hueso trabecular), microestructura, cinética y contenido celular. Debido a esto la extrapolación de los resultados es un desafío que debe ser desarrollado cuidadosamente.

El segundo modelo animal más utilizado es el perro, que presenta zonas disponibles de mayor tamaño y con diferente macro y micromorfología. Las zonas utilizadas más frecuentemente son, intraoral a nivel de 4 premolares previamente extraídos tras un periodo de curación previo a la colocación de implantes <sup>44</sup>. Las localizaciones intraorales tienen una relación hueso cortical-trabecular similar a la humana pero pueden presentar complicaciones relacionadas con las extracciones de premolares. La tibia y el fémur por el contrario, presentan una mayor proporción de hueso trabecular, lo que las hace una zona más atractiva para testear materiales con alta osteoconducción.

Debido a que las superficies de implantes buscan incrementar la respuesta hueso-implante, se recomiendan usar varios momentos de implantación para establecer una evolución temporal de las diferentes variables a analizar entre las superficies de implantes.

## INTRODUCCION

Indicadores cuantificables de la respuesta hueso implante han sido utilizados en caso de comparar dos diseños distintos de implantes. Deben usarse el mayor número de indicadores de respuesta biológica (parámetro histomorfométricos estáticos y dinámicos y test biomecánicos) para establecer correlaciones.

Se desconoce o es motivo de controversia si el incremento de estabilidad mecánica de diferentes superficies es debido a un incremento del anclaje mecánico del tejido con la rugosidad de superficie, al aumento del contacto implante hueso, al incremento de densidad ósea del tejido circundante, a la adhesión ósea biológicamente modificada o a la interacción entre tales variables. Con frecuencia existe una combinación entre estos factores.

Las comparaciones *in vivo* entre distintos diseños de superficie de implantes suelen tener un componente histomorfométrico y/o biomecánico. Los parámetros histomorfométricos estudiados habitualmente son la cantidad de contacto implante hueso (BIC), densidad ósea y cantidad y tipo de contenido celular. Parámetros dinámicos como la tasa de aposición mineral (MAR) son usados con menos frecuencia. Los test biomecánicos normalmente evalúan las fuerza de tracción, la fuerza de presión y el torque para el fracaso de interfase<sup>44</sup>.

A causa de que el contacto hueso implante ha sido el parámetro medido con más frecuencia, los test histomorfométricos y biomecánicos deberían ser mejorados para reducir el grado de especulación de un BIC aumentado para una superficie respecto a otra. Medidas dinámicas como la

## INTRODUCCION

tasa de aposición mineral serían deseables para evaluaciones temporales de la cinética de modelado y remodelado óseo alrededor de diferentes superficies de implantes. Esto debería mostrar como las distintas propiedades histomorfométricas, histomorfológicas y mecánicas evolucionan en función del momento de implantación.

Los test biomecánicos estándar *ex vivo* (torque, presión y tracción)<sup>45</sup>, normalmente miden la cantidad de fuerza o torque para producir el fracaso de la interfaz hueso implante. Se obtiene información relativa al grado de fijación biomecánica, pero estos test no proporcionan datos sobre la interfase hueso implante a nivel microscópico.

Los estudios de nanoindentación han evaluado exitosamente el efecto de distintas texturas de superficie en las propiedades mecánicas del hueso y en función del tiempo de implantación<sup>46</sup>. Aunque las mediciones de propiedades mecánicas en función del tiempo pueden ser obtenidas a través de nanoindentación, el valor de los cambios relativos a módulo y dureza en función del tiempo de curación alrededor de los implantes es subjetivo.

Varios factores que influyen en el fenómeno de osteointegración permanecen bajo investigación activa (interacciones implante/fluidos biológicos, química y estructura de las superficies y mecanismo y cinética de la respuesta ósea a los implantes).

### 3.1. MECANISMOS DE ANCLAJE

Diversas casas comerciales han lanzado nuevos productos buscando aumentar la rugosidad y química de la superficie. Las nuevas superficies



## INTRODUCCION

suman las actuales opciones de anclaje óseo con énfasis para la unión bioquímica.

### 3.1.1. Unión mecánica:

Un implante de titanio se ancla al hueso a través del crecimiento óseo hacia las pequeñas irregularidades de la superficie del implante. Superficies moderadamente rugosas muestran una respuesta ósea más fuerte que dispositivos maquinados. El aspecto negativo es el tiempo consumido, ya que hay semanas de retraso hasta que el hueso empieza a crecer en las irregularidades de la superficie del implante.

Antes de la osteointegración, el implante depende de su macrodiseño para la estabilidad. En publicaciones de los ochenta se indicaba que el hueso necesita un mínimo de 50 a 100  $\mu\text{m}$  por poro. Hoy tenemos conocimientos suficientes para saber que irregularidades de 1  $\mu\text{m}$  pueden ser invadidas por hueso, aunque un sistema de Havers necesita un espacio mayor <sup>47</sup>.

La superficie electropulida con una rugosidad similar a los pilares (0.2  $\mu\text{m}$ ) no llega a integrar apropiadamente. La unión biomecánica más fuerte es la vista en superficies de 1.5  $\mu\text{m}$  donde implantes de espray de plasma de titanio mostraron un crecimiento óseo más débil.

### 3.1.2. Unión bioquímica:

El titanio es bioinerte, en contraste con materiales bioactivos como algunos fosfatos cálcicos por ejemplo. Para poder definir el anclaje bioquímico debemos tener en cuenta que la bioactividad es la característica

## INTRODUCCION

del material del implante que permite formar una unión con tejidos vivos. El potencial químico de unión entre implantes y tejidos del huésped se refería a la composición de ciertos cristales cerámicos y su reacción con los tejidos del huésped. Los biocristales cerámicos no se han usado para implantes orales por razones biomecánicas. En su lugar, cerámicas de fosfato de Ca (por ejemplo hidroxiapatita) fue lanzado como cobertura con potencial bioactivo.

### 3.2. MODIFICACION DE SUPERFICIE DE IMPLANTES DENTALES

La primera intención del procesado de las superficies de implantes es modular de forma positiva la respuesta tisular hueso implante. Para este propósito, numerosos métodos se han usado para cambiar la topografía y la química de la superficie, ya que la calidad de la superficie determinará las reacciones tisulares con el implante.

Las investigaciones actuales en implantología van encaminadas a conseguir una rápida integración del implante con el tejido óseo que le rodea. El éxito o fracaso de este proceso depende del comportamiento de la interfase tejido óseo-implante. En este proceso participan muchas variables: tipo de material utilizado, forma, topografía y tipo de superficie sin olvidar cargas mecánicas, técnica quirúrgica y aspectos inherentes a cada paciente que afectan a su metabolismo óseo, sin olvidarnos tampoco de los tejidos blandos, los cuales participan del éxito del implante formando una barrera alrededor del implante protegiendo la interfase implante-hueso <sup>48</sup>.

## INTRODUCCION

Un factor importante para el éxito de biomateriales implantados, son las propiedades superficiales, ya que las primeras interacciones entre el biomaterial y el ambiente biológico tiene lugar sobre la superficie de la implantación. De hecho la superficie de los implantes es uno de los principales factores que afectan en el proceso de osteointegración <sup>49</sup>. El primer proceso que puede afectar durante mucho tiempo en la estabilidad de un implante se encuentra afectado por las propiedades físicas, químicas y bioquímicas. Así existe interés en mejorar las interacciones entre las células y el material mediante el tratamiento de las propiedades de la superficie <sup>50</sup>.

Autores como Albrektsson y cols <sup>38</sup> dividen en cuatro las categorías que pueden ser modificadas para mejorar las características de la superficie de un implante:

1. Propiedades mecánicas: Relacionado con el estrés potencial de la superficie que puede resultar en una tasa de corrosión aumentada y desgaste relacionado con la dureza. Se ha descrito un descenso en la resistencia a la fatiga en caso de revestimientos porosos. Una técnica usada para disminuir el desgaste es la implantación de iones en. Las propiedades mecánicas aún no han sido suficientemente investigadas.

2. Propiedades topográficas: De gran importancia porque relaciona el grado de rugosidad de la superficie y la orientación de las irregularidades. La rugosidad de superficie, como veremos posteriormente, ha sido el objetivo principal de los implantes dentales por más de una década. El implante original de Branemark fue un tornillo roscado de mínima rugosidad de

## INTRODUCCION

superficie (0.5-1  $\mu\text{m}$ ) y era considerado el gold standard en base a los buenos resultados clínicos.

En los 90, la evidencia experimental demostró que implantes de rugosidad de superficie mayor (1.5  $\mu\text{m}$ ) presentaban una respuesta ósea más fuerte que los maquinados. En animales de experimentación se observó una mayor respuesta ósea, con una mayor cantidad de hueso en la interfase, lo cual no implica un mayor éxito clínico. El potencial inconveniente de las superficies rugosas incluye más problemas de periimplantitis y mayor riesgo de fuga iónica.

El riesgo aumentado de periimplantitis con superficie rugosa tiene algún soporte clínico aunque relacionado con superficies muy rugosas (mayor de 2  $\mu\text{m}$ ) de spray de plasma de titanio, superficies moderadamente rugosas no mostraron aumento de periimplantitis y mostraron mantenimiento de hueso en un periodo de 5 años de seguimiento<sup>39</sup>.

El otro inconveniente potencial de las superficies rugosas, el riesgo aumentado de fuga iónica, se basa en el conocimiento de que a mayor rugosidad de superficie hay un mayor contacto hueso-implante y esto favorece la fuga iónica. A pesar de esto, no se identificaron mayores niveles y parece probable que el aumento de fuga iónica con superficies levemente rugosas sea despreciable<sup>37</sup>.

Las irregularidades de superficies nanométricas afectan a la respuesta. Cambios microscópicos en la rugosidad del implante pueden resultar simultáneamente en cambios nanométricos. Un estudio muestra

## INTRODUCCION

que la línea celular de macrófagos reacciona a los microsurcos a nivel nanométrico, donde otro estudio no apreció cambios significativos en la adhesión celular a distintas nanotopografías <sup>40</sup>.

3. Características físicas: Referido a factores tales como la energía superficial y la carga. La energía superficial es la medida del grado al cual los enlaces están insatisfechos en la superficie. Una superficie con alta energía tiene una mayor afinidad para la adsorción, y teóricamente debería mostrar una oseointegración más fuerte que una superficie de baja energía. La descarga luminiscente aumenta la energía superficial del implante y favorece su esterilización. Baier y cols.<sup>41</sup> indican que un aumento de energía de superficie influencia en las propiedades para formar una ventajosa capa primaria.

Un modo práctico para medir la energía de superficie es la medición de ángulos de contacto, un método también usado para determinar si la superficie es hidrofóbica o hidrofílica. La hipótesis de que un implante con mayor energía de superficie tiene una osteointegración más fuerte no ha sido verificada en estudios *in vivo*.

4. Propiedades químicas: Parecen ser el principal enfoque para el futuro de la implantología oral. La composición química de la superficie provocará distintas reacciones del medio que lo rodea. Dicha composición con frecuencia difiere de la mayoría del material debido a los métodos de preparación y a las impurezas atrapadas en superficie<sup>42</sup>. La capa superficial puede contener enlaces reactivos y un intercambio continuo de agua y varios iones que influyen en la unión de proteínas de superficie y las subsecuentes reacciones celulares<sup>43</sup>.

## INTRODUCCION

En los últimos años han aparecido diversos tratamientos de superficie aplicados a implantes dentales para aumentar la rugosidad superficial del mismo, demostrando que la osteointegración a corto y medio plazo se ve favorecida por una superficie de rugosidad micrométrica. Esta mejora parece estar ligada, según diversos estudios experimentales<sup>44</sup> a la existencia en la superficie del implante de microrugosidades favorecedoras de la adhesión celular, dando lugar a una mayor diferenciación celular y a una mayor expresión de osteoblastos. Este efecto tiene como consecuencia una rápida regeneración y una mejor calidad del tejido óseo regenerado.

Sobre su topografía se sabe que la superficie rugosa tiene mayor contacto hueso implante que la superficie mecanizada, debido a un aumento de la migración y proliferación celular así como un mayor torque de desinserción. La topografía superficial (rugosidad y textura) puede considerarse la más importante de las propiedades superficiales que influyen en la respuesta del organismo a la presencia del implante.

Todas las superficies contienen irregularidades o asperezas de diferente longitud de onda que se superponen a la forma de la pieza, que definen su topografía y que se pueden dividir en tres categorías: rugosidad, ondulación superficial y error de forma.

Dentro del primer grupo, la rugosidad incluye las irregularidades de corto alcance en el espacio y la textura superficial inherente al proceso de fabricación. Está creada por valles y picos de amplitud variable y espaciado superior a las dimensiones moleculares. La ondulación superficial consiste en irregularidades de la superficie de espaciado superior a la rugosidad;

## INTRODUCCION

mientras que el error de forma es una desviación grande de la forma de la pieza.

Las técnicas cuantitativas de medida de los diversos factores anteriores hacen uso de filtros de corrección de fase, en la mayoría de los casos de tipo Gaussiano, para separar la ondulación y los errores de forma de la rugosidad.

La rugosidad, es el resultado acumulativo de algunos, o todos, de los siguientes factores:

- La estructura cristalina
- El proceso de fabricación
- La ingeniería de superficies aplicada, como puede ser el ataque ácido, el recubrimiento con proyección por plasma o el arenado, por poner algunos de los ejemplos más empleados en implantes dentales.

La rugosidad superficial se puede describir y cuantificar por métodos topográficos y se puede expresar como el resultado de efectuar mediciones sobre el perfil (2D o 3D) de la superficie.

La microtopografía de la superficie afecta al grado de contacto entre el implante y el hueso (humectabilidad). En los últimos años han aparecido diversos tratamientos de superficie aplicados a implantes dentales como son: métodos por adición (Técnica Spray plasma-titanio (TPS), sinterizado de titanio, hidroxiapatita y métodos por sustracción (granallado sin y con grabado ácido, el grabado ácido únicamente, oxidación anódica, Microtextured titanium surface (MTX)).

## INTRODUCCION

Otras modificaciones de la superficie sugeridas en los últimos años están enfocadas a obtener un aumento del espesor y de la cristalización de la capa superficial del óxido de titanio, ya que algunos estudios sugieren una relación entre el incremento del espesor y/o cristalización de la capa del óxido y mayor absorción de proteínas a la superficie, mayor diferenciación y crecimiento de los osteoblastos y mayor osteointegración de implantes tratados<sup>32</sup>.

Hay autores que defienden la presencia de interacciones de tipo químico entre el implante y el hueso que le rodea. Este hecho aparece al aplicar a la superficie del implante materiales reactivos del tipo fosfato cálcico y flúor, que son capaces de conseguir uniones químicas entre el implante y el hueso que le rodea. Este concepto ha dado lugar al término de óseocoalescencia como sinónimo del hecho de fundirse el implante y el hueso. Esta forma de integración parece que tiene una buena resistencia tanto a las fuerzas de tracción, como a las de tensión. Por lo tanto podemos afirmar que el éxito del implante depende del tipo de superficie de éste, y de la respuesta del hueso que lo rodea. Si nos centramos en la topología de la superficie, se acepta que tiene un importante papel en la diferenciación osteoblástica y en la mineralización ósea <sup>45</sup>. Ya aquí, se distinguen implantes de superficie rugosa e implantes de superficie lisa. Estudios *in vitro* han demostrado que las células osteoblásticas tienden a actuar más rápidamente ante superficies rugosas, hecho que se manifiesta en un aumento de la diferenciación de estas células óseas, un aumento de la actividad de la fosfatasa alcalina, junto a un aumento en la producción de osteocalcina y de colágeno.



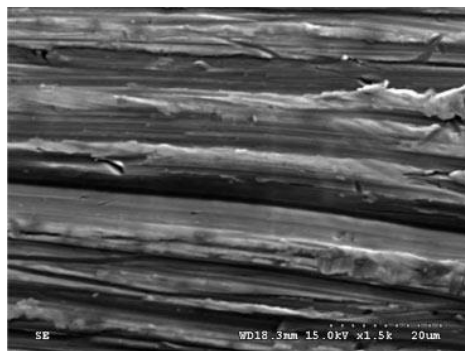
## INTRODUCCION

En cuanto a los tejidos blandos y a diferencia de los osteoblastos, los fibroblastos se adhieren más fácilmente a las superficies de los implantes no rugosos o lisos ofreciendo poca resistencia a la tracción <sup>46</sup>.

Los métodos de modificación de superficie pueden ser divididos en varios grupos:

### 3.2.1. TOPOGRÁFICAS

**3.2.1.1. Superficie mecanizada:** Para describir algunas de las modificaciones de superficie actualmente usadas a gran escala en la implantología es importante conocer el diseño inicial de la superficie de los implantes. Los primeros implantes tenían una superficie maquinada que era limpiada, empaquetada y esterilizada para prepararlo para su colocación. Después del maquinado la superficie presenta una serie de surcos en función del tipo de maquinado y los ángulos de corte. Este proceso deja una superficie limpia y con una mínima rugosidad de superficie (un rango de 0,4-0,8 $\mu$ m), lo que implica en base a los protocolos clásicos varios meses de osteointegración. La superficie maquinada fue considerada el gold standard durante décadas y tiene una gran cantidad de artículos y estudios relacionados, por lo que la mayoría de nuevas superficies se comparan con ésta.

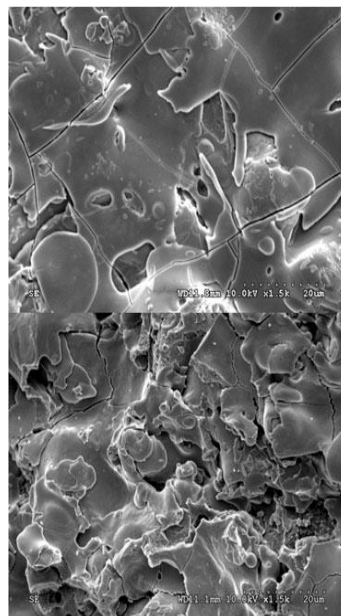


Superficie Maquinada

## INTRODUCCION

3.2.1.2. **Superficies rugosas:** A pesar del exitoso uso de implantes de superficie maquinada durante décadas, numerosos estudios han demostrado que modificaciones en el patrón topográfico de la superficie, no sólo incrementan el contacto implante hueso, también la interacción biomecánica de la interfase en periodos tempranos de implantación. La mayoría de los sistemas de las casas comerciales actuales presentan un rugosidad de 1 a 2  $\mu\text{m}$ , cuyos efectos positivos sobre la osteoconducción y la aposición ósea están bajo investigación.

3.2.1.2.1. Spray de plasma de titanio (TPS): Es uno de los procesos más utilizados para incrementar la rugosidad de los perfiles de superficie, obteniendo valores superiores a 2 $\mu\text{m}$ , incrementando de forma sustancial el área de contacto, siendo recomendados en regiones de hueso de pobre densidad.



Superficie TPS

El procesado por spray de plasma de titanio incrementa el área de superficie aproximadamente seis veces con respecto a la superficie inicial. El incremento de superficie depende de la geometría del implante y

## INTRODUCCION

variables del procesado como el tamaño del polvo, la temperatura del plasma y la distancia entre la salida del plasma y el objetivo.

El aumento significativo de área de superficie representa un incremento efectivo en el área de osteointegración, debido a que se requieren espacios mayores a 50  $\mu\text{m}$  para la formación ósea y su mantenimiento, de modo que el incremento real del área funcional llega a ser 1,5 a 2 veces mayor al área superficial inicial. Este incremento no es favorable únicamente para el crecimiento y aposición ósea, sino que también supone un factor a tener en cuenta en la exposición de la superficie del implante a los fluidos orales y las bacterias, pudiendo facilitar la migración de patógenos a zonas internas del hueso, comprometiendo el éxito de la terapia con implantes debido a dificultades en el control de la periimplantitis. La contaminación bacteriana podría resultar en una degradación química que cause la pérdida del sustrato y anclaje óseo<sup>47</sup>.

3.2.1.2.2. Arenado y grabado ácido: Numerosos estudios *in vivo* han mostrado la importancia de la rugosidad de superficie para la mejora y aceleración de la osteointegración. Superficies rugosas como las obtenidas por plasma de spray de titanio, arenado o grabado ácido, han mostrado valores significativamente mayores de torque de desinserción que las superficies maquinadas <sup>48</sup>.

En los últimos años, las texturas de superficie han sido incrementadas por distintos métodos para obtener un incremento de superficie, limpieza y química. Algunos de los primeros métodos empleados fueron el grabado ácido y el arenado y grabado ácido <sup>51</sup>. La mayoría de las superficie arenadas, son posteriormente grabadas con ácido

## INTRODUCCION

con el fin de mejorar la topografía de superficie y además limpiar los subproductos del procesado. El arenado se realiza con partículas de arena de sílice, biocerámicas reabsorbibles, alúmina o dióxido de titanio, todas de distintos tamaños.

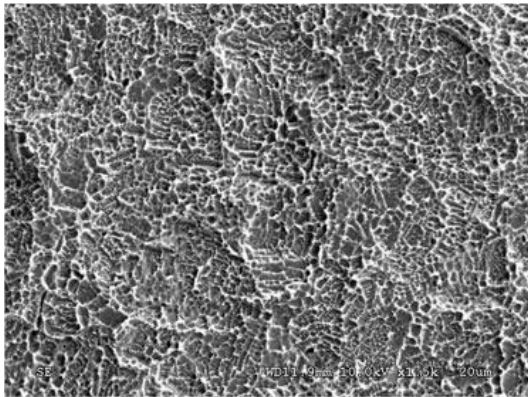
Siguiendo al arenado, los ácidos usados más comúnmente son hidrofluorídrico, nítrico, sulfúrico, o una combinación de distintas soluciones <sup>49</sup>.

Este método produce un incremento de superficie gracias a la retirada selectiva por diferencias electroquímicas en la topografía de superficie <sup>50</sup>. Este proceso debe realizarse en condiciones controladas, ya que un grabado excesivo disminuye la topografía de superficie y las propiedades mecánicas, pudiendo perjudicar a la osteointegración. Es importante que los grabados ácidos retiren las partículas remanentes del arenado (especialmente alúmina o sílica), porque análisis químicos de implantes fracasados han demostrado que la presencia de tales partículas interfieren con la osteoconducción del titanio, independientemente de la biocompatibilidad del material <sup>40</sup>.

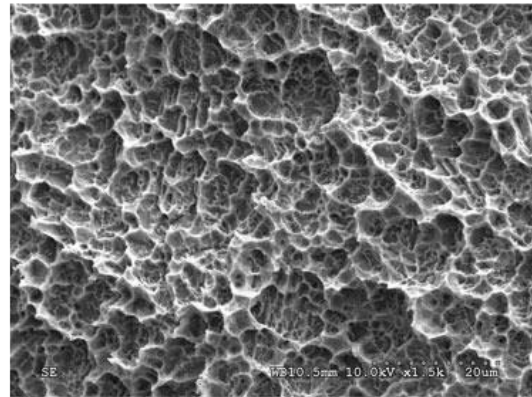
El arenado con partículas biocerámicas o con dióxido de titanio no repercute de forma negativa en la dinámica de la osteointegración, ya que las partículas biocerámicas se reabsorben o disuelven después de la implantación, y las partículas de dióxido de titanio embebidas en la superficie son biocompatibles<sup>40</sup>. Sin embargo, la liberación de partículas de distintos tamaños en la superficie puede llevar a una respuesta inflamatoria en detrimento de la integración de tejidos duros. Observaciones de las superficies de doble grabado ácido y de arenado y grabado mostraron que

## INTRODUCCION

diferentes patrones de rugosidad pueden obtenerse dependiendo de las condiciones del procesado, obteniendo un incremento del área de superficie cuando se compara con superficies maquinadas <sup>49</sup>. También resulta evidente que los distintos tipos de partículas usadas para el arenado producen topografías cualitativamente diferentes. Estos distintos tipos de tratamientos de superficie, típicamente muestran una rugosidad de superficie ( $R_a$ ) entre 0.5 y 2  $\mu\text{m}$ , los cuales son valores asociados con un incremento en la respuesta huésped implante en periodos tempranos de implantación.



Doble Grabado Ácido



Arenado y Grabado Ácido

Además de la gran cantidad de estudios *in vitro* e *in vivo* que demuestran los beneficios de la superficie grabada con ácidos<sup>50-53</sup>, numerosos estudios clínicos avalan la superficie grabada con ácidos, incluso con protocolos de carga precoz o inmediata, en diferentes restauraciones protésicas (implantes unitarios, puentes fijos, rehabilitaciones fijas y sobredentaduras)<sup>54-56</sup>. Algunos autores apuntan la posibilidad de un descenso de las propiedades mecánicas del titanio debido a una fragilización por absorción de hidrógeno que puede generar micro-

## INTRODUCCION

cracks en la superficie, reduciendo la ductilidad y la resistencia a fatiga de los implantes<sup>57</sup>.

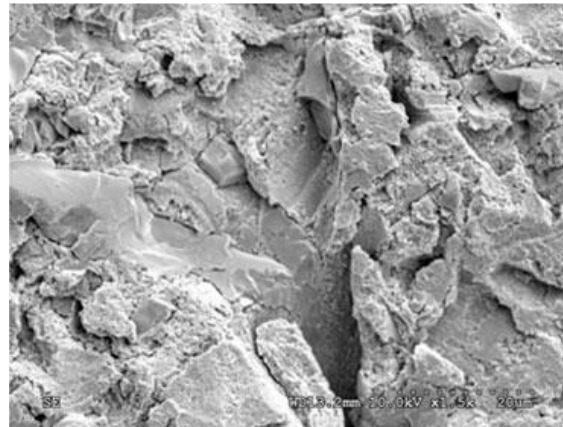
### 3.2.2. QUÍMICAS

3.2.2.1. **Superficies fluoradas:** Las superficies arenadas y grabadas pueden presentar cambios químicos como modificaciones que resultan en la fluorización de la superficie. El contenido final de fluoruro en la superficie de óxido de titanio procede de la alta afinidad entre el titanio y el fluoruro en una combinación de especies con variadas estequiometrias en la superficie de la capa de óxido. La razón para tal modificación es beneficiarse de ambas composiciones topográficas y químicas<sup>58</sup>.

Estas superficies fluoradas han demostrado incrementar la expresión génica en colecciones celulares<sup>59</sup>, mejorando también la respuesta huésped implante en los casos de implantación temprana<sup>58</sup>. Los mecanismos de formación ósea y maduración alrededor del implante debidos a esta modificación de superficie siguen bajo investigación. El tratamiento de superficie con flúor fue introducido por Ellingsen<sup>60</sup>, quien realizó test de push-out en tibias de conejo con implantes maquinados frente a implantes fluorados. Las superficies fluoradas necesitaron una fuerza mayor que los controles para romper la interfase, observándose una substancial adhesión ósea, donde los controles siempre fallaron en la interfase entre hueso y material del implante. Sul y cols.<sup>61</sup> tras la reunión de la Sociedad para los Biomateriales en 2002, reportaron un contacto significativamente mayor en implantes con superficie fluorada al mes y los 3 meses de seguimiento a pesar de que los implantes fluorados eran mínimamente rugosos y los controles eran moderadamente rugosos. Ellingsen y cols.<sup>60</sup> mostraron un

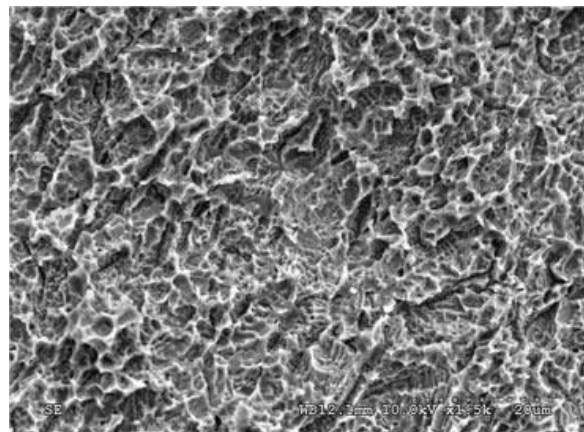
## INTRODUCCION

torque de desinserción en tibia de conejo mayor en implantes fluorados que en grupos control.



Superficie Fluorada

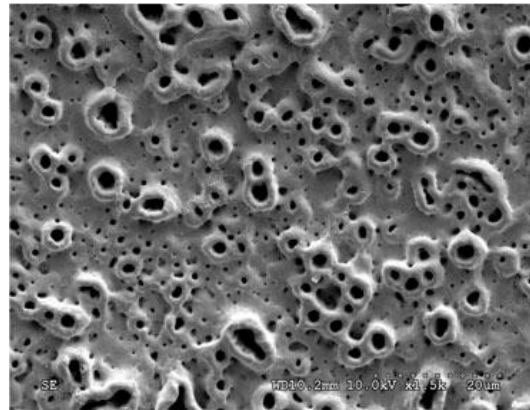
3.2.2.2. Hidroxilación de óxido de titanio: Modificación de superficie que hace que las superficies metálicas se vuelvan hidrofílicas para la adsorción de agua (hidratación). Esta modificación de superficie (SLActive Straumann), presenta el mismo patrón de rugosidad que superficies previas, con un espesor de la capa de óxido comparable al de aleaciones de titanio, sin embargo, la caracterización físico/química de superficie muestra una humectabilidad superior, lo cual es un atributo cuando interactúan los fluidos corporales con la superficie del implante después de su colocación<sup>62</sup>.



SLActive

## INTRODUCCION

3.2.2.3. Anodización electroquímica: Modificación de superficie típicamente obtenida por la combinación de anodización galvanostática o potencioestática de aleaciones de titanio cuando son sumergidas en soluciones químicamente controladas de ácido fuerte.



Anodización Electroquímica

Este proceso resulta en el engrosamiento de la capa de óxido de titanio en varios grados de magnitud cuando se compara con superficies pasivadas. Durante este proceso, la interacción entre las regiones de formación y disolución de la capa de óxido da como resultado una microestructura porosa con variedad de estequiometrias de óxido<sup>61</sup>. Numerosos estudios han demostrado que esta modificación de superficie incrementa la respuesta huésped/implante en caso de implantación temprana con respecto a otras superficies<sup>63</sup>.

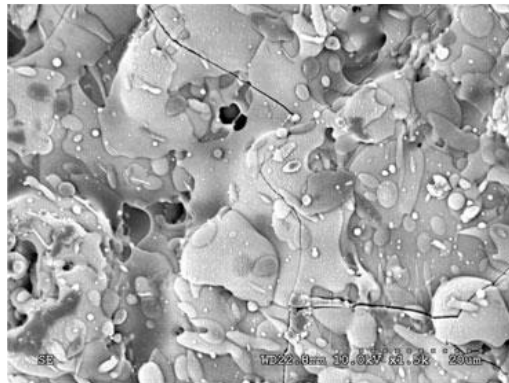
### 3.2.3. REVESTIMIENTO DE CERÁMICAS BIOACTIVAS:

Entre todas las modificaciones de superficie basadas en la ingeniería, la adición de materiales basados en calcio y fosfato como revestimiento han recibido especial atención<sup>40</sup> ya que estos materiales son los componentes básicos del hueso natural y se pueden aplicar a lo largo de la superficie del implante gracias a distintos métodos de procesamiento industrial<sup>40</sup>.



## INTRODUCCION

El calcio y el fósforo son capaces de promover la función celular, guiando a la formación de una fuerte interfase hueso-fósforo cálcico, además son osteoconductoras y pueden unirse a proteínas morfogenéticas para llegar a ser osteoinductivos. Jarcho y cols.<sup>64</sup> fueron los primeros en presentar indicaciones de unión directa entre hueso e hidroxiapatita. Hoy se cree que todos los fosfatos cálcicos tienen capacidad bioactiva aunque esto no es aplicable a todos los tipos.



Revestimiento PSHA

Los mecanismos de la potencial capacidad bioactiva del fósforo cálcico son desconocidos pero existe la hipótesis de que la interfase hueso-capas de apatita carbonatada está formada por disolución de iones de material biocerámico<sup>65</sup>. Otros mecanismos potenciales incluyen un efecto directo de las altas concentraciones de calcio y fósforo y la alta afinidad por factores de crecimiento.

Uno de los revestimientos biocerámicos más comercializados es el procesamiento de spray de plasma de hidroxiapatita de 20-50  $\mu\text{m}$  de grosor (PSHA)<sup>40,47</sup>. El revestimiento PSHA normalmente confía en la unión mecánica entre una superficie metálica arenada o grabada y el biomaterial

## INTRODUCCION

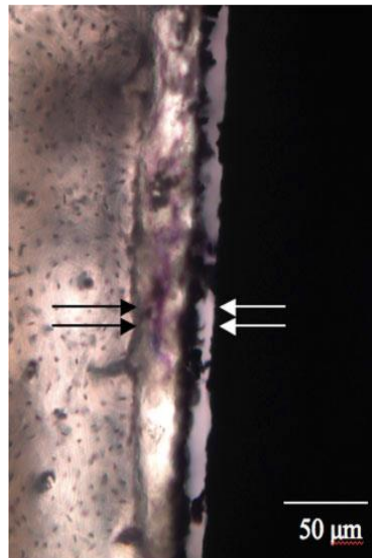
con aptitud cerámica PSHA para la integridad física durante la colocación y función del implante.

Se han encontrado mejoras en la unión hueso-biocerámica (bioactividad) y en las magnitudes de contacto implante-hueso en periodos tempranos de implantación<sup>40, 47</sup>. Sin embargo, este tipo de superficie de implantes no ha tenido mucha aplicación clínica debido a estudios que han mostrado que el revestimiento no se disuelve/degrada de forma uniforme después de largos periodos de función<sup>42</sup>, reportándose también compromisos en el efecto del recubrimiento y en las propiedades mecánicas de la interfase hueso-recubrimiento <sup>42,47</sup>. Análisis de recuperación de estos implantes han mostrado que las interfases entre el volumen de metal, el óxido y el revestimiento biocerámico puede ser considerado como un enlace débil, donde el fracaso adhesivo ha sido reportado.

La composición uniforme del revestimiento y la uniformidad cristalina no siempre se ha obtenido a través del proceso de plasma spray, y la literatura presenta controversia respecto a la composición y contenido cristalino y el rendimiento *in vivo* <sup>42</sup>. Por esto, las alteraciones de las proporciones atómicas del calcio o el fósforo a lo largo del revestimiento y diferencias en el grosor relativo han mostrado alterar las tasas *in vivo* de disolución/degradación del revestimiento. Además de las cuestiones inherentes al proceso y de la disolución variable de la superficie PSHA *in vivo*, la zona transmucosa representa un desafío para ésta <sup>42</sup>. Estos factores han contribuido al descenso en el uso de implantes con revestimiento PSHA en la práctica clínica.

## INTRODUCCION

Pese a sus limitaciones, que han sido documentadas y pueden llevar al fracaso al tratamiento implantológico, estos implantes han demostrado tener unas mayores propiedades osteoconductoras que los implantes sin revestimiento, lo cual puede ser un factor significativo en la supervivencia del implante, especialmente en áreas donde la cantidad y calidad ósea están comprometidas y la creación de anclaje óseo adicional es necesaria.



Fracaso en la unión revestimiento

Ha sido imposible demostrar la existencia de la bioactividad, sin embargo, varias indicaciones para la unión química se han presentado en la literatura científica:

Coalescencia tisular: Teoría basada en la micrografía transelectron de alto poder (TEM) demostrando que el tejido flota hacia la superficie del biomaterial. Las distancias son tan pequeñas que la unión química parece probable. Sin embargo, interfases de morfología similar entre imágenes de alto poder de hidroxiapatita y titanio c.p, no se consideran bioactivas.

## INTRODUCCION

Cuando un implante es retirado (por ejemplo test de push out), la ruptura no ocurre en la interfase, si no en el tejido óseo. Esto puede ser importante, enlaces iónicos actúan a corta distancia (nanómetros), sin embargo encontrar hueso en la superficie de implantes después de un test de push out no sirve como prueba de bioactividad, ya que pueden tratarse de porciones de hueso fracturadas atrapadas en las irregularidades del implante.

Evidencia química, como la formación de coberturas de apatita carbonatada o fosfato cálcico en implantes cerámicos.

Encontrar un anclaje óseo significativamente más fuerte en implantes con tratamiento de superficie en comparación con otros no tratados pero de macrodiseño idéntico puede explicarse, pero futuras investigaciones podrían identificar otros factores.

### 3.2.4. NANOSUPERFICIES

La evolución de la ingeniería basada en los procesos de fabricación ha permitido la producción controlada de estructuras submicroscópicas de dominios de materia condensada. La producción de dominios reducidos (nanoestructuras) puede afectar fuertemente a la configuración electrónica de los materiales, ofreciendo oportunidades para una variedad de aplicaciones en el campo de la ingeniería biomédica. En el caso de los biomateriales, la producción de pequeños dominios parece influir

## INTRODUCCION

fuertemente en la respuesta del huésped a niveles celulares y tisulares.

La ingeniería tisular a través de los nanobiomateriales está bajo investigación activa. Los beneficios de su uso cuando se compara con su contrapartida a mayor nivel no han sido caracterizadas completamente todavía. Por otro lado, los procesos de fabricación para controlar las dimensiones de la estructura del material han sido útiles en las limitaciones de producción de dispositivos biomédicos, particularmente en el caso de revestimientos dentales e implantes con cerámicas bioactivas.

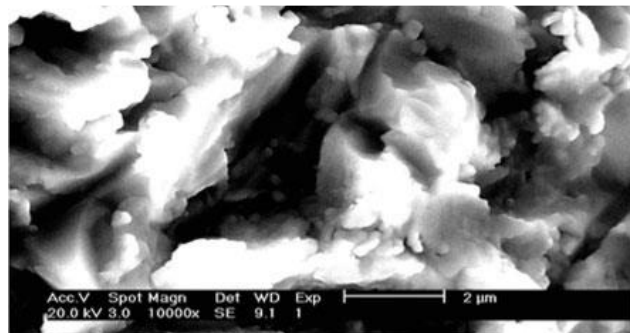
En un intento de mejorar las limitaciones del proceso de revestimiento PSHA, una fina película nanoestructurada de biocerámica ha sido desarrollada para superficies de implantes a través de un proceso de deposición sol-gel<sup>40</sup>, deposición de láser pulsado (PLD) <sup>66</sup>, técnicas de revestimiento por pulverización, deposición asistida por haz de iones (IBAD)<sup>45</sup> y deposición electroforética <sup>40</sup>. Estas técnicas son aplicadas para obtener grosores de revestimiento substancialmente más finos al compararlos con PSHA, con un rango típico entre 1 a 5  $\mu\text{m}$ .

Como alternativas a los revestimientos continuos delgados, la deposición cristalina discreta (DCD)<sup>67</sup> y la combinación de soportes de chorro reabsorbible con técnicas de grabado ácido modificadas (RBM+MAE) han sido desarrollados para la incorporación de Ca y P en la superficie de los implantes dentales. Técnicas como la deposición asistida por haz de iones (IBAD) buscan crear un revestimiento más fino que permita mejorar la adhesión al sustrato metálico respecto a la superficie de espray de plasma de hidroxiapatita (PSHA) (40 MPa frente a 20 MPa)<sup>40, 25, 47</sup>. La rápida disolución de las capas finas puede resultar en una exposición

## INTRODUCCION

del substrato metálico poco tiempo después de la colocación quirúrgica, por lo tanto, la posibilidad de tener un contacto íntimo entre hueso y el substrato metálico del implante a nivel microscópico después de la disolución del revestimiento puede suponer una atractiva característica. Este contacto íntimo podría evitar una interfase entre hueso, biocerámica, óxido de superficie, y substrato metálico del implante, favoreciendo el anclaje a largo plazo<sup>45, 47</sup>.

Estudios *in vivo* han demostrado mayor fijación biomecánica, bioactividad, y BIC<sup>45</sup> cuando comparamos implantes con superficie IBAD con otros sin revestimiento. El principal inconveniente que presentan estas técnicas es el relativo alto coste que tendrían para una producción a escala.

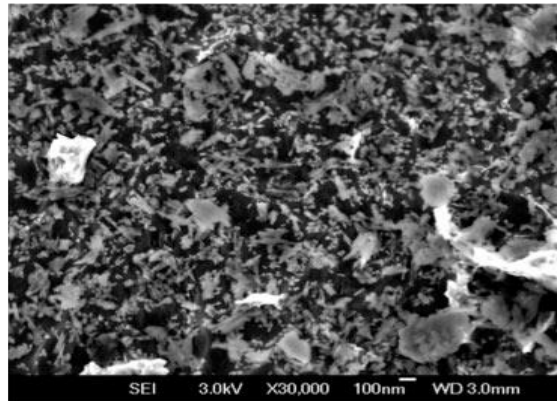


Deposición asistida por haz de iones (IBAD)

Otra aproximación para incorporar Ca y P en la superficie de los implantes es la deposición cristalina discreta (DCD), que incorpora cristales nanométricos de CaP a una superficie previamente tratada (doble grabado ácido). Este método produce una superficie distinta a nivel morfológico y microestructural respecto a otros métodos de deposición de revestimiento fino, permitiendo incrementar el poder osteoconductor de la superficie sin las limitaciones a largo plazo de los revestimientos PSHA.

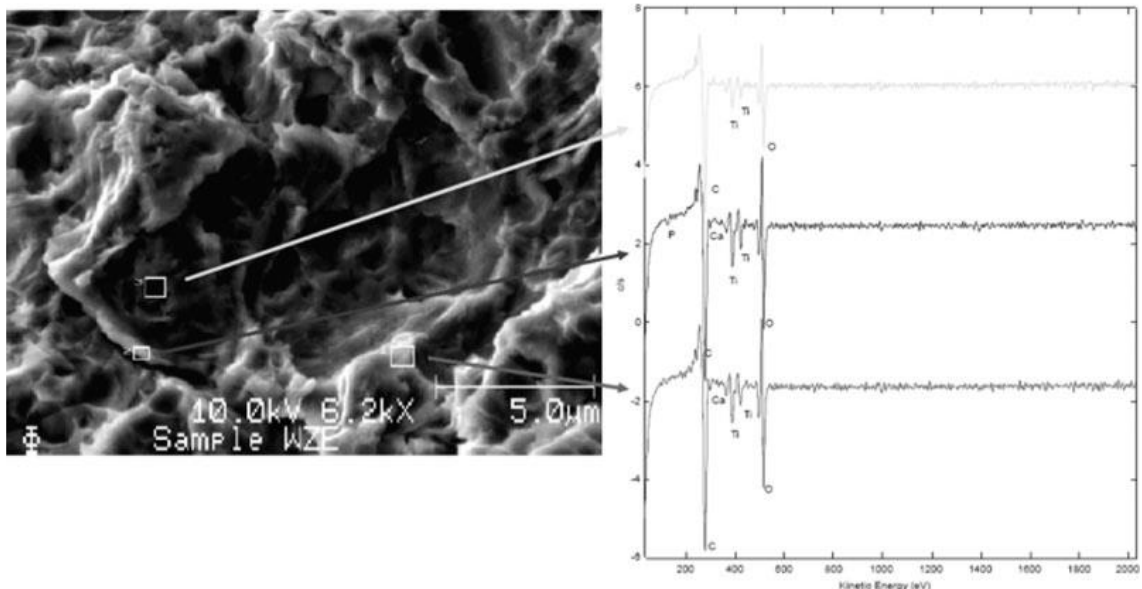
## INTRODUCCION

Estudios *in vivo* han conseguido mostrar beneficios de esta superficie respecto al doble grabado ácido, encontrando resultados prometedores en humanos, con un mayor BIC a los 2 meses<sup>68</sup>.



Deposición Cristalina Discreta (DCD)

Otras técnicas como la de soporte de chorro reabsorbible (RBM), buscan añadir biocerámicas biocompatibles tras el arenado en un proceso de limpieza selectiva (MAE), llevando a una superficie moderadamente rugosa con Ca y P remanente en la superficie.



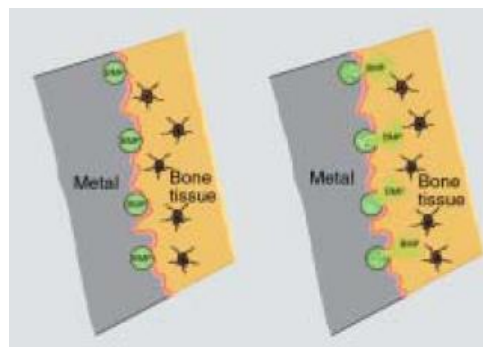
Soporte de Chorro Reabsorbible con Grabado Ácido Modificado (RBM+MAE). El espectro de electrones Auger muestra la presencia de Ca y P en la superficie.

## INTRODUCCION

Desde un punto de vista teórico, todas las nanosuperficies pueden ser beneficiosas a nivel de rugosidad y química, mostrando una mejora en la respuesta del huésped. Aunque los resultados obtenidos son prometedores, se necesitan más ensayos clínicos para mejorar estas superficies.

### 3.2.5. SUPERFICIES BIOACTIVAS

Algunas superficies son tratadas con agentes con potencial estimulante óseo. Pueden suponer soluciones futuras gracias a los positivos efectos de las BMPs en casos de escaso soporte óseo como crestas alveolares reabsorbidas<sup>69</sup>.



Superficies con BMPs

Otra sustancia utilizada para la estimulación ósea es la melatonina, que ha sido destacado como un importante mediador en la estimulación y formación de hueso, estimulando la proliferación y síntesis de fibras de colágeno tipo I, disminuyendo el tiempo de diferenciación de los osteoblastos de 21 a 12 días e inhibiendo la acción de los osteoclastos, y por tanto la reabsorción ósea<sup>70-72</sup>. Estudios como el de Calvo-Guirado y cols.<sup>73</sup> encuentran un mayor BIC en implantes tratados con melatonina (75,1%) frente a los implantes sin tratar (64%). Otros estudios *in vitro* comparan el crecimiento y comportamiento de los osteoblastos en discos de

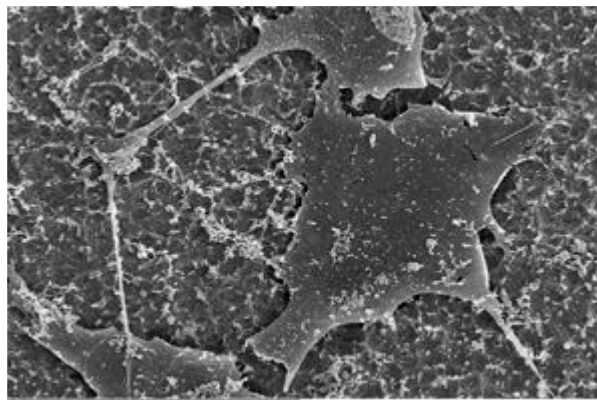


## INTRODUCCION

titanio con doble grabado ácido, doble grabado ácido y maquinados, frente a las mismas superficies tratadas con melatonina, encontrando una mayor colonización celular a las 72 horas del cultivo en el grupo de doble grabado ácido con melatonina<sup>74</sup>.

### 3.2.7 SUPERFICIE GRABADA CON ÁCIDOS

Una de los tratamientos de superficie con más aval científico es el grabado ácido, ya que hay una gran cantidad de estudios *in vitro*, *in vivo* y clínicos con pacientes<sup>74-100</sup>.

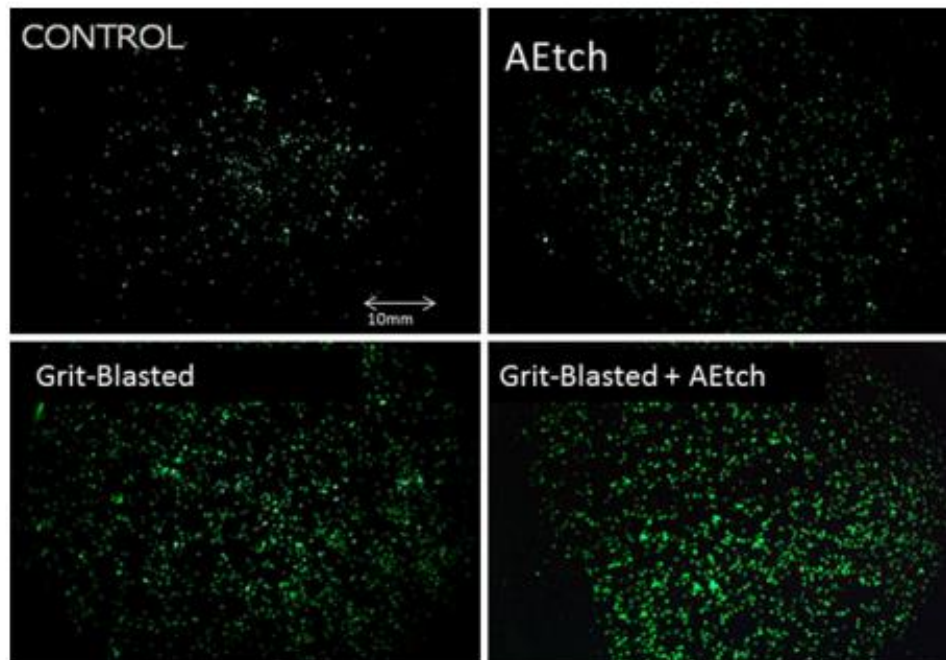


Osteoblasto a 1500x sobre titanio grabado con ácido

Estudios *in vitro* han encontrado una rugosidad de superficie de 0,277  $\mu\text{m}$  tras el grabado con ácidos, frente a 0,114  $\mu\text{m}$  en los implantes mecanizados, lo que favorece la adhesión celular, llevando a un recuento de 144,5 osteoblastos a las 72 horas<sup>74</sup>.

## INTRODUCCION

Otros autores como Herrero-Climent y cols.<sup>75</sup> combinan estudios *in vitro* e *in vivo*. Para los primeros usaron discos de titanio grado 3 comercialmente puro grabados con ácido hidrofúorídrico durante 15 segundos y cultivaron células osteoblásticas MG63, obteniendo un recuento a la semana de 1255 células, pudiendo ser el doble en casos de combinación de grabado ácido con arenado.

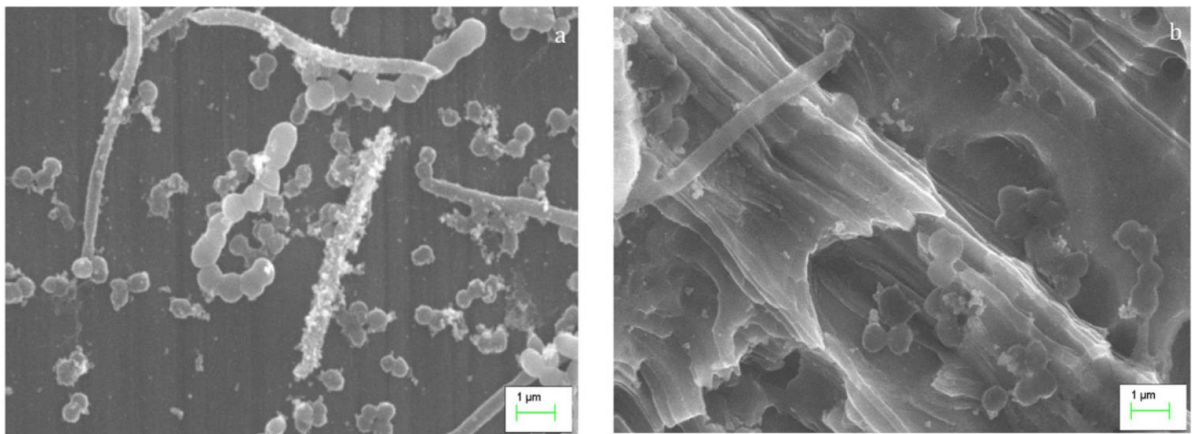


Microscopía de fluorescencia de células MG63

Las características microscópicas podrían hacer pensar que las superficies grabadas con ácidos podrían ser más susceptibles a la contaminación bacteriana y al desarrollo de periimplantitis, dificultando su posterior tratamiento.

## INTRODUCCION

Violant y cols.<sup>76</sup> estudian la colonización de biofilm en distintas superficies con diferentes grados de pureza de titanio para lo cual crean 4 discos de titanio, uno de superficie maquinada con grado 2 y otro de grado 4 y otros dos de superficie grabada con ácidos de grados 2 y 4. El modelo in vitro de biofilm estaba compuesto por colonizadores tempranos (*Actinomyces naeslundii*, *Streptococcus gordonii*), secundarios (*Veillonella parvula*), e intermedios (*Fusobacterium nucleatum*, ssp. *polymorphum*). La biomasa total fue significativamente superior en los discos de titanio grado 4, siendo también mayor entre los discos de grado 4 en la superficie grabada con ácidos.



Microscopia de barrido de electrones de los biofilms sobre la superficies mecanizadas (izquierda) y grabadas con ácido (derecha)

Un estudio de Lubin y cols.<sup>77</sup> contamina con *Porphyromonas gingivalis* discos de titanio con grabado ácido y con nanosuperficie, los descontamina con EDTA, tetraciclina, ácido cítrico o con láser Nd: YAG y evalúa la efectividad con un posterior cultivo celular de osteoblastos. Los resultados mostraron una mayor efectividad del ácido cítrico y las tetraciclinas en la descontaminación de la superficie grabada con ácidos.

## INTRODUCCION

En los estudios *in vivo* realizados con conejos New Zealand se cuantificó la osteointegración mediante estudios histomorfométricos, llegando a concluir que a las 10 semanas encontraban un 25% de BIC, frente a casi un 50% para los casos en los que se combinaba arenado y grabado ácido<sup>75</sup>.

Calletti y cols.<sup>78</sup> evaluaron las diferencias de BIC entre las superficies grabadas con ácidos y las superficies maquinadas. 6 conejos maduros Nueva Zelanda fueron usados para la investigación. Cada conejo recibió 2 implantes, uno de cada superficie en cada tibia. Un total de 24 implantes fueron insertados. Los animales fueron sacrificados por parejas a los 15, 30 y 60 días después de la colocación de los implantes. La histomorfometría del BIC fue evaluada.

Las superficies de grabado ácido mostraron un mayor porcentaje de contacto óseo que las maquinadas durante la fase temprana de curación, la cual no era estadísticamente significativa. A los 30 y 40 días, las diferencias de BIC entre ambas superficies si fueron estadísticamente significativas, mostrando un mejor BIC en un periodo largo de curación.

Jimbo y cols.<sup>79</sup> Realizaron un estudio en el que comparaban la superficie grabada con ácido con una superficie con anodización electroquímica. Insertan 20 implantes, 10 de cada tipo, en tibias de conejo y administraban fluorocromos a los 20 días de la colocación, y 4 días antes de sacrificar a los animales de experimentación. En los días de inserción y retirada (a las 6 semanas), la estabilidad de los implantes fue medida con un análisis de frecuencia de resonancia. Los valores Implant Stability Quotient (ISQ) no presentaban diferencias estadísticamente significativas

## INTRODUCCION

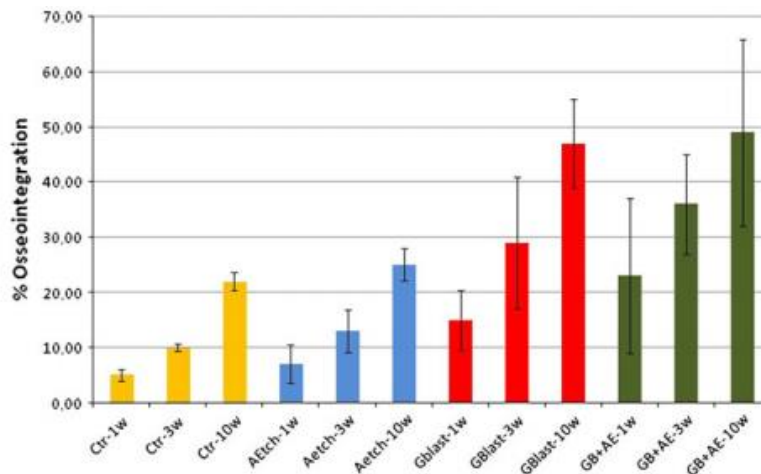
en ninguno de los momentos registrados. El BIC fue significativamente mayor para la superficie anodizada, sin embargo, el área ósea y la cuantificación de fluorocromos mostraron mayores valores para la superficie grabada con ácidos.

Se realizaron estudios para valorar la regeneración ósea alrededor de implantes colocados en defectos críticos en tibia de conejos Nueva Zelanda. 12 conejos fueron usados para disponer de 24 lechos quirúrgicos en los que se crearon defectos de 6mm en los que insertaron implantes con superficie grabada con ácidos. La mitad de los defectos se rellenaron con hidroxiapatita en forma esférica y la otra mitad con hidroxiapatita granular, cubriendo los lechos con membranas. La evaluación histológica después de 8 semanas mostró nueva formación ósea en ambos grupos sin diferencias estadísticamente significativas en el contacto implante hueso, el contacto hueso injerto, área de hueso injertada y volumen óseo<sup>80</sup>.

La aplicación de sustancias como el plasma rico en plaquetas (PRP) puede mejorar la formación ósea alrededor de los implantes dentales. Streckbein y cols.<sup>81</sup> realizaron un estudio colocando 4 implantes con distintos tratamientos de superficie en cada hemimandíbula de 12 perros Beagle. Las posiciones de los implantes y la aplicación del PRP fue aleatoria. Después de la aplicación de fluorocromos, los perros fueron sacrificados y se obtuvieron las biopsias después de 6 y 12 semanas y se analizaron las muestras. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las distintas superficies de implantes y entre la presencia o no de PRP.

## INTRODUCCION

De Fernandes y cols.<sup>82</sup> estudiaron el torque de desinserción y el contacto implante hueso en tibias de conejo, siendo el grupo control implantes de superficie maquinada, y encontraron un BIC de 69,2% frente a 50,7%, y un torque de desinserción de 50 Ncm en lugar de 31,5 Ncm. También estudios experimentales con perros Beagle realizados sobre implantes grabados con ácidos por Martinez y cols.<sup>83</sup> demuestran la necesidad de un mayor torque de desinserción y unas mejores propiedades físico-químicas de los implantes de titanio con superficie grabada con ácidos fluorhídrico y nítrico.



Porcentaje de oseointegración para cada superficie a diferentes semanas después de la cirugía

Cho y cols.<sup>51</sup> realizaron un estudio en tibias de conejo en el que comparan el torque de desinserción de implantes con superficie maquinada frente a implantes con superficie grabada con ácidos. Encontraron un torque de desinserción medio de 34,7 Ncm, siendo superior al grupo control de forma estadísticamente significativa.

Algunos estudios indican la posibilidad de mejorar las características de las superficies grabadas con ácidos sometiéndolas a tratamientos

## INTRODUCCION

térmicos. De esta forma encuentran una mayor rugosidad de superficie en comparación con otras superficies grabadas y un mayor espesor de la capa de óxido de titanio, que ha sido relacionada con una mayor adsorción de proteínas, mejorando la respuesta celular y doblando la fuerza de unión implante-hueso <sup>84</sup>.

Múltiples estudios clínicos han demostrado la eficacia del doble grabado ácido con diversos protocolos de carga funcional. Los implantes con superficie grabada con ácidos también han sido testados en zonas con hueso injertado <sup>85-99</sup>. La superficie grabada con ácidos podría, teóricamente, presentar una mayor incidencia de periimplantitis en comparación con superficies mecanizadas que no faciliten la adhesión celular <sup>89</sup>. Diversos estudios han demostrado su eficacia en protocolos de carga inmediata <sup>90-92</sup>.

# **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**



## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La implantología oral ha tenido un gran desarrollo desde el descubrimiento de la osteointegración, lo que permite que a día de hoy haya numerosos pacientes en todo el mundo, ya sean edéntulos totales, parciales o unitarios, beneficiándose de un tratamiento que se ha incorporado de forma rutinaria a la práctica odontológica <sup>11</sup>.

Para que la terapia implantológica sea exitosa a nivel clínico, debe producirse la osteointegración del implante. La osteointegración depende en gran medida de la morfología del implante y de su superficie, siendo ambos factores determinantes <sup>63</sup>. Distintos estudios, junto con la experiencia clínica han permitido evidenciar que diferentes diseños macroscópicos y tratamientos de superficie pueden favorecer y acelerar la osteointegración, mejorando la respuesta ósea <sup>33-34, 56,58</sup>.

Los tratamientos de superficie permiten generar mayores rugosidades a nivel microscópico, lo que favorece la carga de los implantes, dado que hay una mejora en la estabilidad primaria y en la osteointegración, mejorando la unión hueso-implante <sup>51-55</sup>. Por todo ello, la estructura de superficie del implante ha sido uno de los elementos modificados con más frecuencia para aumentar el éxito clínico de la terapia con implantes <sup>55, 86, 88</sup>.

Los métodos para producir rugosidad de superficie son numerosos, desde procesos de sustracción, como el arenado o el grabado ácido <sup>51, 61</sup>, a procesos de adición, como el plasma spray de titanio o los revestimientos de cerámicas bioactivas <sup>40, 47</sup>.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Numerosos estudios han demostrado que los tratamientos de superficie de los implantes tienen un gran efecto sobre los acontecimientos tempranos tales como la adsorción de proteínas, formación de coágulos de sangre, y en el comportamiento celular que ocurre tras la implantación, estos eventos tienen un impacto efectivo sobre la migración, adhesión, y la diferenciación de las células mesenquimales, acelerando y aumentando la respuesta celular de los osteoblastos <sup>51</sup>.

Estudios *in vitro* han concluido que la superficie rugosa tratada aumenta la colonización de células encargadas de la remodelación ósea <sup>74-75</sup>, sin que eso justifique una mayor colonización bacteriana que pueda llevar a la aparición de periimplantitis <sup>76-77</sup>.

Estudios con modelos animales permitieron cuantificar el BIC en implantes con superficie rugosa, siendo éste mayor que en superficies mecanizadas, al igual que con parámetros como el torque de desinserción, que también presento valores superiores en los grupos de superficie grabada <sup>48,51,78-79</sup>.

Debido a las mejoras clínicas que plantea el uso de implantes con superficie tratada rugosa, ha sido posible plantear protocolos prostodóncicos modificados de carga precoz e inmediata, lo que permite acortar los tiempos de curación sin carga que se planteaban clásicamente, pudiendo pasar de un plazo libre de carga de entre 4 y 8 meses, a uno de carga inmediata en función de la calidad ósea <sup>37,54-56, 90,94,102</sup>.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Aunque el tratamiento con implantes se ha ido desarrollando en las últimas décadas, sin embargo todavía es limitado el conocimiento de los resultados biológicos y clínicos a largo plazo, porque en relación a las numerosas publicaciones sobre implantología oral, son escasos los estudios de 10 o más años <sup>111-114</sup>.

En base a los avances en la investigación de las superficies de los implantes dentales con diferentes tipos de procedimientos (mecanizado, arenado, grabado con ácidos, anodizado, arenado y grabado, etc), los objetivos del siguiente trabajo de investigación doctoral son:

1. La respuesta biológica de diferentes superficies de implantes en el tejido óseo de animales de experimentación .
2. La valoración del grado de oseointegración, mediante estudios de histomorfometría, de diferentes superficies de implantes en animales de experimentación.

# **MATERIAL Y METODOS**

## MATERIAL Y METODOS

### 1. IMPLANTES

#### 1.1.DESCRIPCIÓN DEL MATERIAL A ENSAYAR (COMPOSICIÓN DEL PRODUCTO).

Los implantes dentales que van a ser evaluados están fabricados de titanio grado 5 conforme a la norma ISO-5832-2:1999<sup>100</sup>.

##### 1.1.1. Descripción de los materiales estudiados.

Los implantes utilizados fueron del modelo Galimplant, con un diámetro de plataforma de 4,1 mm, un diámetro del implante de 4 mm y una longitud de 12 mm. El fabricante del implante es Galimplant, Sarria, España.

Un total de 40 implantes fueron utilizados en los 20 conejos o especímenes.

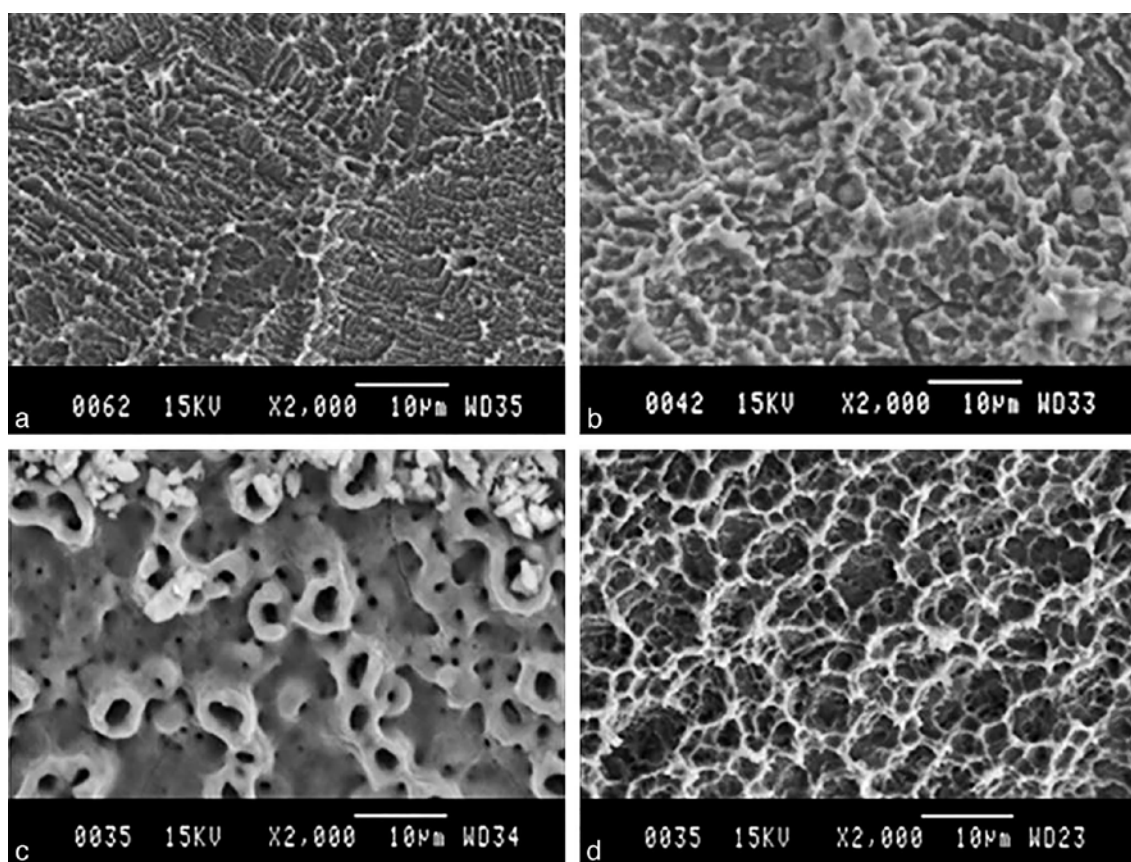
##### 1.1.2. Método de fabricación.

Los fabricantes parten de unas varillas de 5 mm de diámetro de titanio grado médico que mecaniza hasta obtener la forma y tamaño deseados.

##### 1.1.3. Tipos de superficies.

Las superficies analizadas fueron mecanizada (CTR), grabada con ácido sulfúrico (AE), anodizadas con ácido clorhídrico y un voltaje de 320 v (SA) y arenadas con partículas de alúmina de 600  $\mu$ m 0,25 MPa de presión (GB).

## MATERIAL Y METODOS



### 1.1.4. Forma y tamaño de los implantes.

Son implantes roscados. Su diámetro es de 3,8 mm y su longitud de 12 mm. El cuello es 1,5 mm y una plataforma de 1 mm de altura.

### 1.1.5. Limpieza, manipulación y esterilización utilizadas.

Tras su fabricación se limpian en cubas ultrasónicas para eliminar impurezas, se envasan en atmósfera estéril y se esterilizan mediante radiación gamma a una dosis de 25 KGy.

## **MATERIAL Y METODOS**

### **2. ANIMALES**

#### **2.1. ORIGEN**

Los animales utilizados fueron suministrados por Charles River, Saint Aubin les Elbouf, Francia. Esta granja está calificada como centro suministrador de animales de laboratorio.

#### **2.2. EDAD**

Los animales tenían entre 18 y 21 semanas al inicio de la cuarentena. Aproximadamente 6 meses al inicio del procedimiento de implantación.

#### **2.3. RAZA**

Conejo Blanco de Nueva Zelanda.

#### **2.4. SEXO**

Todos los animales de experimentación eran hembras.

#### **2.5. CONDICIONES DE ALOJAMIENTO, DIETA Y PESO.**

Los animales fueron alojados en jaulas individuales en condiciones de temperatura (15-21° C), humedad, ventilación y fotoperiodo controlados según anexo II de la directiva 86/609/CEE.

El periodo de cuarentena se estipuló en 21 días, cumpliendo los requisitos normativos del animalario. Los animales fueron alimentados con pienso seco preparado en forma de pellets, esterilizado y especialmente fabricado para la alimentación de animales de laboratorio.

Su peso al llegar era alrededor de 3,5 Kg. El responsable de bienestar animal del centro, así como el personal del establecimiento y los

## **MATERIAL Y METODOS**

investigadores velaron por la salud de los animales durante todo el experimento.

### **2.6. MUERTES INESPERADAS**

No se produjeron muertes inesperadas ni durante la cuarentena ni durante el periodo experimental.

## **3. TÉCNICA QUIRÚRGICA**

### **3.1. TÉCNICA DE INSERCIÓN DE LOS IMPLANTES.**

Una vez transcurrido el periodo de cuarentena los animales fueron preparados para el experimento mediante tranquilización (medetomidina y ketamina, vía intramuscular) e inducción anestésica con mascarilla de isoflurano al 5% hasta alcanzar efecto. El mantenimiento de la anestesia se realizó con mascarilla de isoflurano al 2%.

El campo quirúrgico fue depilado mediante el empleo de una maquinilla eléctrica y desinfectado con una solución de povidona iodada y alcohol. El campo fue protegido utilizando paños de campo estériles y un paño fenestrado adherido a la piel en el lugar de incisión de la piel.

El abordaje fue un abordaje lateral distal del fémur, incidiendo lateralmente la piel y el tejido subcutáneo para posteriormente disecar la musculatura y exponer mediante un elevador del periostio la superficie lateral del cóndilo femoral lateral. Llegados aquí se procedió al fresado del hueso a baja velocidad según indicación del fabricante del implante control y objeto del estudio con el empleo de un motor modelo Intrasurg 300 de la marca Kavo. Una vez colocado el implante, en sentido lateromedial, se

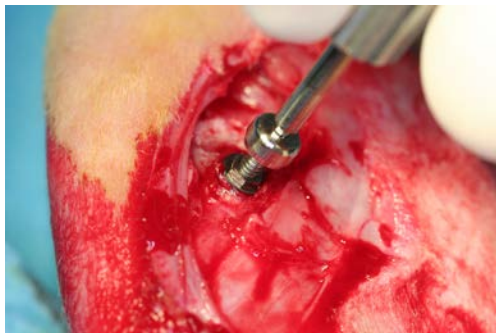


## MATERIAL Y METODOS

procedió a la sutura de la herida mediante el empleo de vicryl 3-0 en planos profundos y nylon 3-0 para la piel.



Tras el cierre de la herida volvimos a aplicar povidona iodada sobre la herida y esperamos la recuperación anestésica para reintegrarlos a su alojamiento, donde continuaron durante todo el periodo experimental. Como medida preventiva para evitar contaminaciones secundarias se administraron dosis de antibióticos durante 3 semanas tras la cirugía.



### 3.2. NUMERO DE IMPLANTES INSERTADOS POR ANIMAL, LOCALIZACIÓN Y PERIODO DE OBSERVACIÓN

En todos los animales se insertó un implante en cada fémur distal. En total se colocaron 40 implantes (10 implantes de cada superficie testada) en 20 animales. El periodo de ensayo utilizado fue de 4 y 10 semanas.

## **MATERIAL Y METODOS**

### **4. RECUPERACIÓN Y TÉCNICA HISTOLÓGICA**

#### **4.1. TÉCNICA DE RECUPERACIÓN**

Tras el periodo de ensayo se procedió al sacrificio de los animales mediante el uso de una sobredosis de barbitúricos por vía intravenosa (Dolethal, Vetoquinol, Francia). Posteriormente se recuperaron los fémures distales mediante disección y el empleo de una sierra de huesos.

Los especímenes fueron sumergidos en una solución de formaldehído en solución neutra al 4% durante 7 días hasta el momento de su procesado. Para su identificación utilizamos un código compuesto por un número y una letra. El número indicaba el animal (1 al 20) y la letra si era la extremidad derecha o izquierda (R ó L).

##### **4.1.1. Número de implantes recuperados por animal.**

Se recuperaron la totalidad de los implantes.

#### **4.2. DESCRIPCION DE LA TÉCNICA HISTOLÓGICA**

Tras el tallado de las muestras a fragmentos más pequeños, se procedió a la deshidratación de las muestras en concentraciones crecientes de etanol (70-100%) en pasos de 3 días. La inclusión se realizó en un agitador de vaivén utilizando una resina en base de glicolmetacrilato y fotopolimerizable a concentraciones crecientes en solución alcohólica y pasos de 3 días.

La polimerización tuvo lugar mediante el empleo de luz azul de alta intensidad con equipamiento específico. Los bloques obtenidos se

## MATERIAL Y METODOS

prepararon para su sección y desbaste mediante maquinaria del sistema Leica SP1600 (Leica, Wetzlar, Alemania).



La tinción de las preparaciones mediante tinción de Masson-Goldner. Este procedimiento utiliza las siguientes preparaciones:

- a. Hematoxilina férrica de Weigert, que tiñe de morado los núcleos.
- b. Solución de Masson (Goldner I) y ácido fosfomolibdico-Naranja G, que tiñen el tejido fibroso de rojo anaranjado.
- c. Light green para teñir el hueso de verde.

Finalmente, los cortes histológicos son observados a través de un microscopio óptico automatizado (Zeiss Axio, Axio, USA) para obtener un mosaico de imágenes de todo el contorno de los implantes y tejidos circundantes. Cada imagen consta de un mínimo de 25 fotografías ensambladas.

## **MATERIAL Y METODOS**

Las muestras obtenidas fueron fotografiadas digitalmente a distintos aumentos utilizando estereomicroscopio y microscopio óptico. Posteriormente fueron analizadas y medidas las imágenes utilizando un programa de análisis de imagen (Quantimet 500MC, Leica, Cambridge, UK) con un observador que no conocía qué implante estaba analizando.



### **5. EVALUACIÓN**

#### **5.1. EVALUACIÓN MACROSCOPICA**

Se realizó una evaluación macroscópica de los especímenes mediante su inspección visual.

#### **5.2. EVALUACIÓN HISTOLOGICA**

La evaluación histológica fue realizada por técnicas de evaluación semicuantitativa.

## **MATERIAL Y METODOS**

### **5.2.1. Respuesta Biológica.**

En dicha evaluación se cuantifican las distintas células inflamatorias, así como la presencia de neovascularización, fibrosis e infiltrado adiposo.

### **5.2.2. Área de contacto hueso-implante.**

Se midió utilizando imágenes de todo el contorno de los implantes, considerando el porcentaje de contacto con hueso-implante o BIC (bone-implant contact) como el porcentaje de superficie del implante que tenía contacto directo con el hueso en relación a la superficie total del implante en su porción endoósea.

## **6. METODO ESTADÍSTICO**

Se utilizó un programa de software estadístico Minitab 13.1 (Minitab, Pensilvania, EE.UU.) Para observar si las diferencias entre las diferentes superficies de eran estadísticamente significativas se procedió a realizar un análisis de la varianza con el test de comparación múltiple de Fisher con muestras pareadas y no pareadas.

## **7. COMITÉ ETICO**

El Comité Ético de Experimentación de la Universidad Internacional de Catalunya examinó el proyecto de investigación doctoral y autorizó su realización ya que cumplía los requisitos exigidos para experimentación animal según las normativas vigentes en España y la Unión Europea.

# RESULTADOS

## **RESULTADOS**

### **1.EVALUACION MACROSCOPICA**

Macroscópicamente los especímenes presentaban una anatomía normal.

### **2. EVALUACION HISTOLOGICA**

#### **2.1.RESPUESTA BIOLOGICA**

Los 4 tipos de implantes con sus correspondientes superficies, consiguieron oseointegrarse de forma satisfactoria. Los tejidos respondieron de forma adecuada a la inserción de los implantes. Las características macroscópicas eran similares, en relación a su diseño roscado, presentando una respuesta biológica semejante lo que se correspondía con el porcentaje de contacto hueso-implante.

La evaluación histológica fue realizada por técnicas de evaluación semicuantitativa. En dicha evaluación se cuantificaron las distintas células inflamatorias, así como la presencia de neovascularización, fibrosis e infiltrado adiposo. En nuestro caso la infiltración adiposa es típica de la médula ósea, y el fémur tiene abundante médula ósea, por lo que dicha valoración puede ser mayor a la producida en realidad por el implante. Como regla general no se observaron fibrosis ni inflamación rodeando a los implantes.

#### **2.2. HISTOMORFOMETRIA**

Los resultados del análisis de histomorfometría se presenta estructurados, para cada una se indica número de animal, extremidad y

## RESULTADOS

posición del implante. La letra ‘a’ corresponde a la posición situada más cercana a la epífisis del hueso largo y la ‘b’, a la más cercana a la diáfisis.

Para cada implante se ha calculado el porcentaje de contacto directo entre la superficie del implante y el hueso:

$$\% \text{ Contacto total} = \frac{\text{Longitud contacto entre hueso e implante}}{\text{Perimetro total implante}} \cdot 100$$

Para normalizar el porcentaje de contacto directo con la cantidad de hueso primitivo se calcula el porcentaje de contacto parcial. Este parámetro relaciona el contacto directo entre hueso e implante con las regiones en las que el implante está en contacto desde el momento de la cirugía, ver figura 3.

$$\% \text{ Contacto parcial} = \frac{\text{Longitud contacto entre hueso e implante}}{\text{Longitud hueso anterior a la cirugía}} \cdot 100$$



**Figura 3.** Corte histológico del implante dental 2IB teñido con tricrómico de Masson-Goldner. De rojo se indican las regiones donde es más probable que se haya contacto directo entre hueso e implante por la presencia de hueso primitivo. De verde se indican las regiones donde no hay hueso primitivo y es menos probable que haya dicho contacto.



## RESULTADOS

Otros factores analizados y relacionados con la estabilidad de los implantes han sido la presencia de tejido fibroso, hueso trabecular, hueso neoformado en regiones distales del hueso primitivo e indicios de reabsorción ósea.

A continuación, se presentan algunas imágenes de identificación de tejidos.

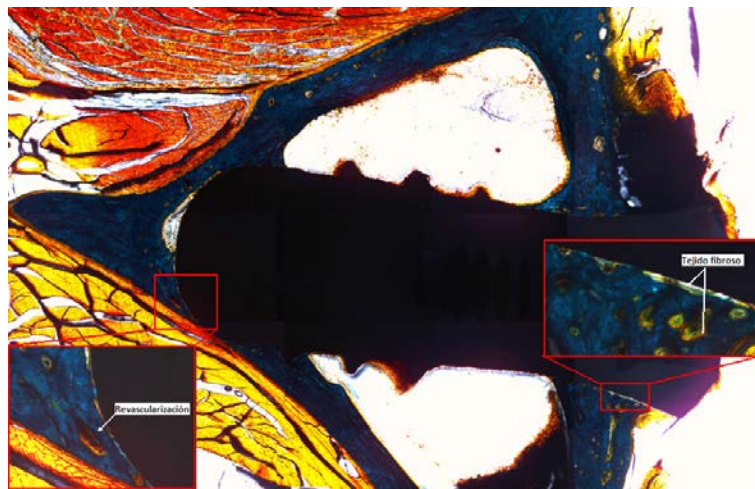


Figura 4. Corte histológico del implante dental 2IB teñido con tricrómico de Masson-Goldner. Se identifican regiones revascularizas, tejido fibroso entre el hueso y el implante.

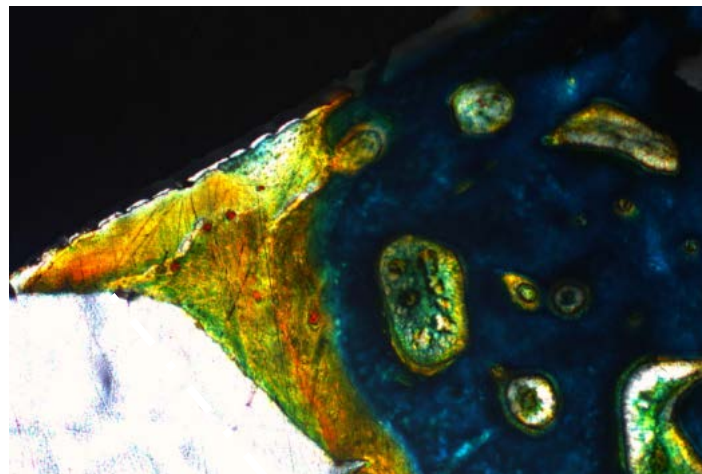
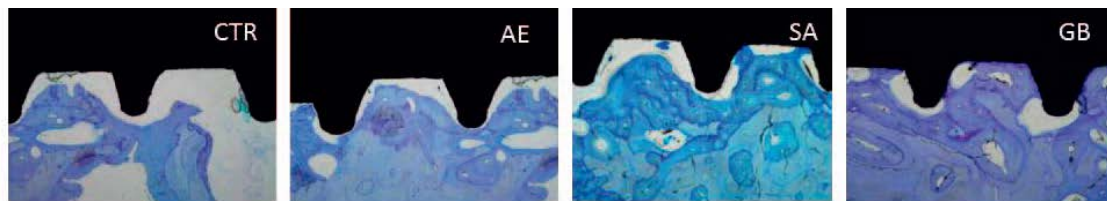


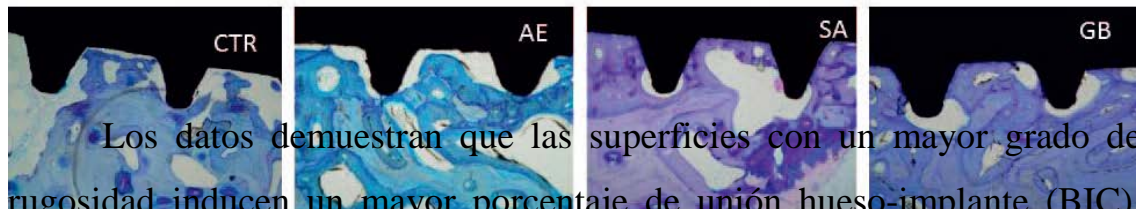
Figura 5. Corte histológico del implante dental 7IB teñido con tricrómico de Masson-Goldner. Se observa como el hueso cortical pierde la linealidad con el hueso primitivo.

## RESULTADOS

Las figuras 6 y 7 representan las histologías de cada periodo de implantación de las diferentes superficies valoradas, CTR (mecanizadas), AE (grabadas), SA (anodizadas), y GB (arenadas). Desde un punto de vista cuantitativo, las imágenes histológicas muestran un incremento de hueso-implante de las 4 a las 10 semanas para todas las muestras analizadas, demostrando la capacidad total o parcial para inducir la formación de hueso nuevo.



4 weeks  
Figura 6. Histología a las 4 semanas



Los datos demuestran que las superficies con un mayor grado de rugosidad inducen un mayor porcentaje de unión hueso-implante (BIC), demostrando una mayor capacidad para atraer los osteoblastos y comenzar la remodelación ósea. Los resultados histomorfométricos del presente estudio doctoral demuestran que significativamente los valores mayores de BIC son representados por la superficie arenada, tanto a las 4 y 10 semanas de implantación,  $67 \pm 10$  y  $77 \pm 9$ , respectivamente (Tabla 1 y Figura 8).

## RESULTADOS

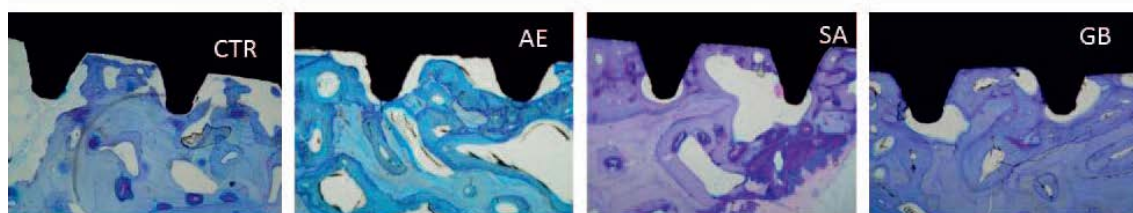


Figura 7. Histología a las 10 semanas

Las demás superficies analizadas, muestran valores histomorfométricos significativamente menores que la superficie arenada, tanto a las 4 y 10 semanas de implantación, mecanizadas ( $32 \pm 6$  y  $41 \pm 12$ ), grabadas ( $37 \pm 13$  y  $43 \pm 10$ ) y anodizadas ( $47 \pm 12$  y  $51 \pm 9$ ), respectivamente (Tabla 1).

Tipo de implante	BIC (%)	BIC (%)
	4 semanas	10 semanas
Mecanizado	$32 \pm 6$	$41 \pm 12$
Grabado ácido	$37 \pm 13$	$43 \pm 10$
Anodizado	$47 \pm 12$	$51 \pm 9$
Arenado	$67 \pm 10$	$77 \pm 9$

Tabla 1

Comparativa de los distintos tratamientos de superficie y su porcentaje de contacto implante-hueso a las 4 y a las 10 semanas

## RESULTADOS

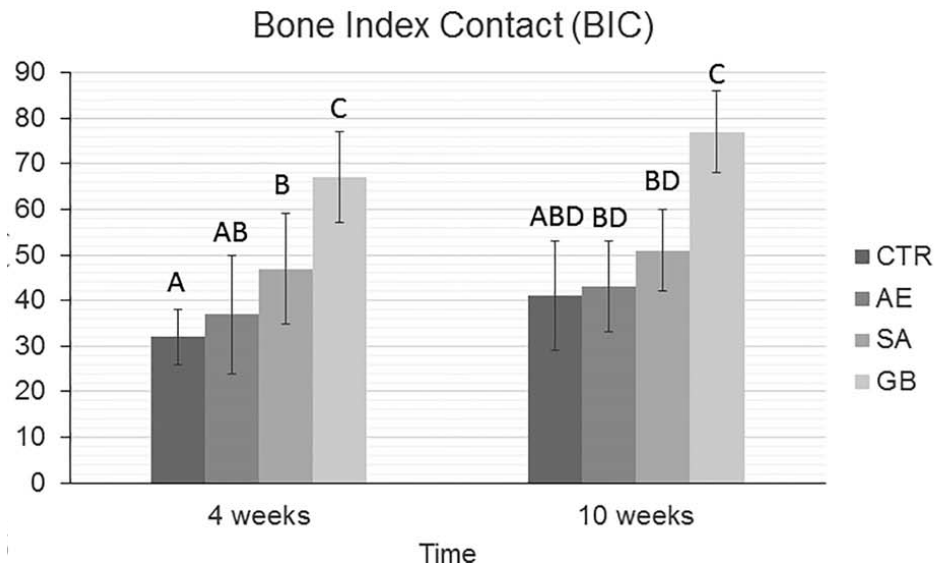


Figura 8. Cuantificación del BIC de los diferentes tipos de superficies

### 2.3. IMÁGENES HISTOLOGICAS Y VALORES HISTOMORFOMETRICOS

2.3.1. Muestra de animal de experimentación nº3, extremidad derecha, epífisis, con BIC 53,3%. Cuello del implante con tejido fibroso que evita contacto implante-hueso (Figuras 9 y 10).



Figura 9

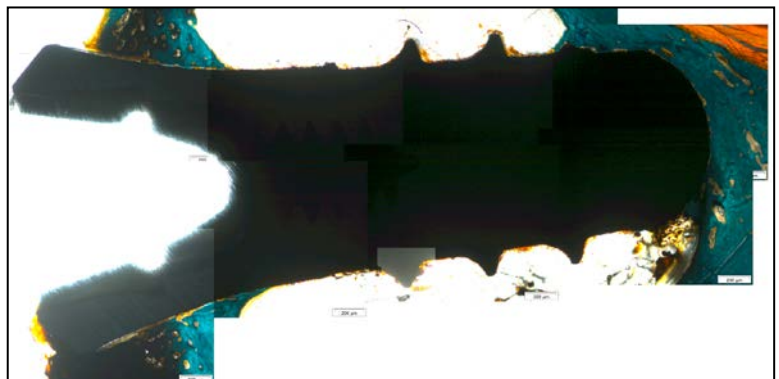


Figura 10

## RESULTADOS

2.3.2. Muestra de animal de experimentación nº3, extremidad derecha, diáfisis, con BIC 54,3%. Mayor presencia de hueso disperso en la superficie, más hueso esponjoso y menos cortical (Figuras 11 y 12).

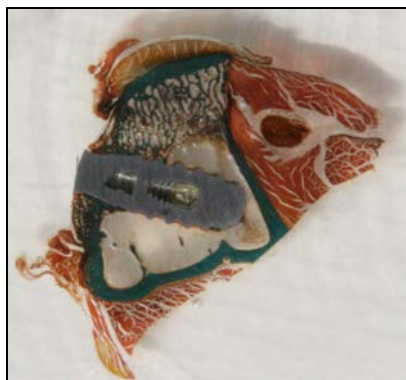


Figura 11



Figura 12

2.3.3. Muestra de animal de experimentación nº3, extremidad izquierda, epífisis, con BIC 44,9%. Contacto no localizado (mayor presencia de hueso disperso), más hueso esponjoso y menos cortical (Figuras 13 y 14).

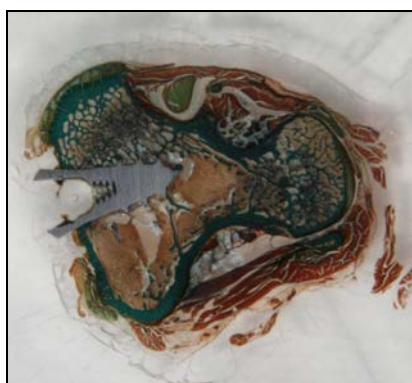


Figura 13

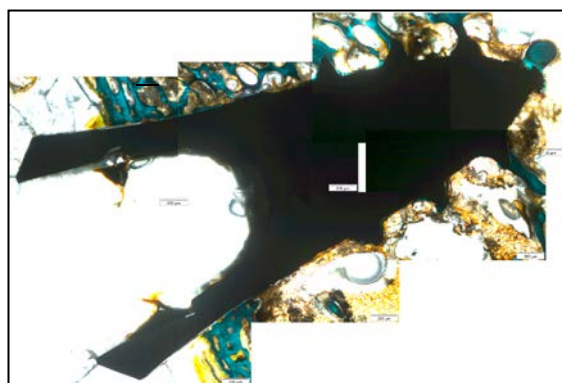


Figura 14



## RESULTADOS

2.3.4. Muestra de animal de experimentación nº3, extremidad izquierda, diáfisis, con BIC 41,4%. Presencia de tejido fibroso que impide el contacto directo hueso-implante (Figuras 15 y 16).



Figura 15

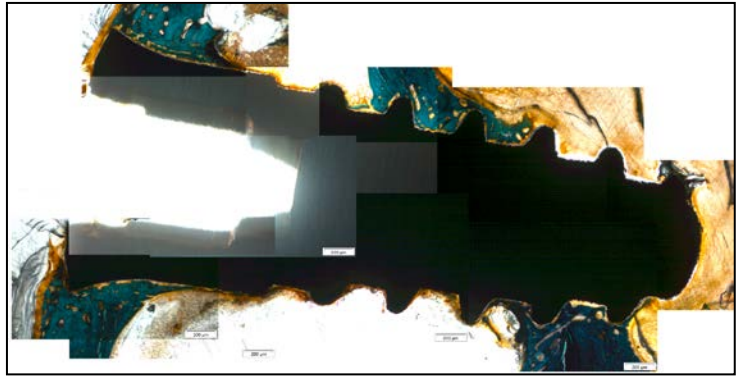


Figura 16

2.3.5. Muestra de animal de experimentación nº4, extremidad derecha, epífisis, con BIC 69,2 %. Zona en contacto con hueso primitivo con poca presencia de tejido fibroso (Figuras 17 y 18).

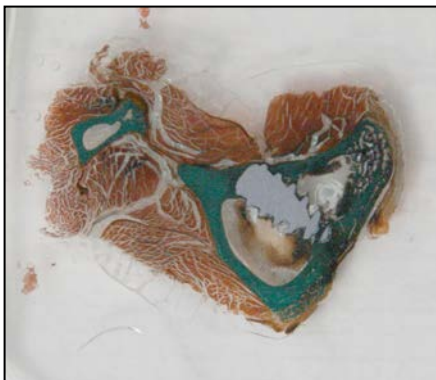


Figura 17

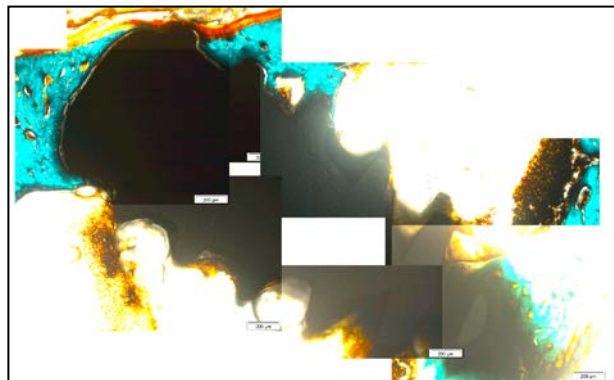


Figura 18

## RESULTADOS

2.3.6. Muestra de animal de experimentación nº4, extremidad derecha, diáfisis, con BIC 18,7 % (Figuras 19 y 20).

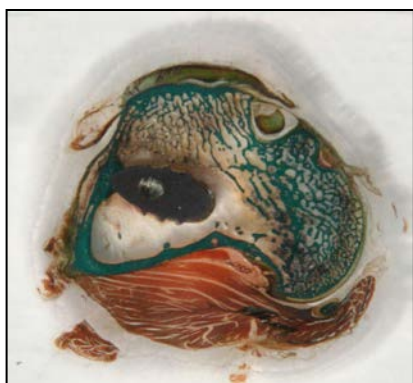


Figura 19

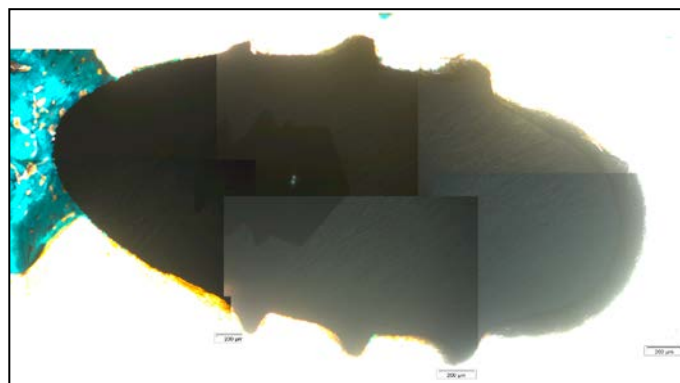


Figura 20

2.3.7. Muestra de animal de experimentación nº4, extremidad izquierda, epífisis, con BIC 78,3%. Baja presencia de hueso cortical, posiblemente la presencia de hueso trabecular se debe al hueso receptor (Figuras 21 y 22).

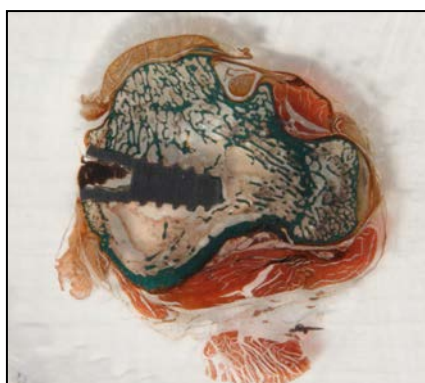


Figura 21

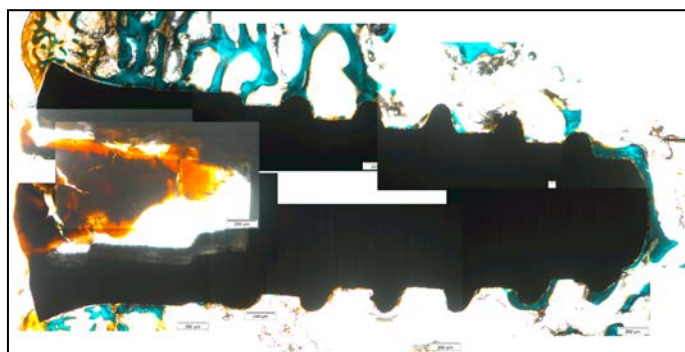


Figura 22

## RESULTADOS

2.3.8. Muestra de animal de experimentación nº4, extremidad izquierda, diáfisis, con BIC 55,7%. Hueso del cuello del implante con menor densidad (significativo)(Figuras 23 y 24).



Figura 23

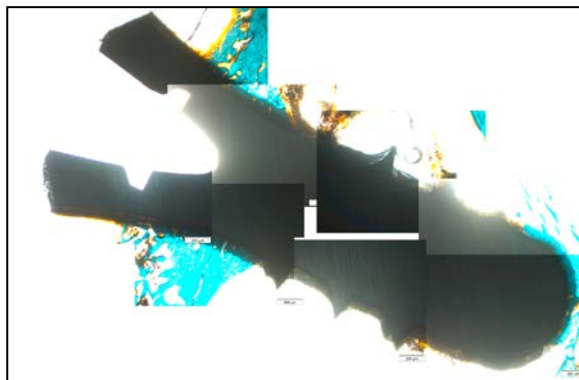


Figura 24

2.3.9. Muestra de animal de experimentación nº5, extremidad derecha, epífisis, con BIC 70% (Figuras 25 y 26).

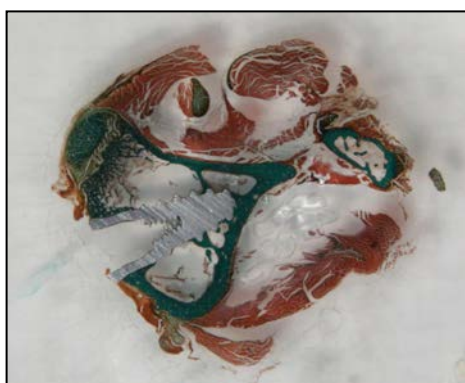


Figura 25

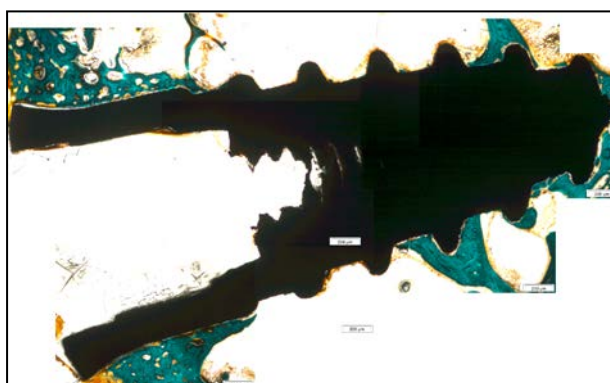


Figura 26



## RESULTADOS

2.3.10. Muestra de animal de experimentación nº5, extremidad derecha, diáfisis, con BIC 74,7% (Figuras 27 y 28).

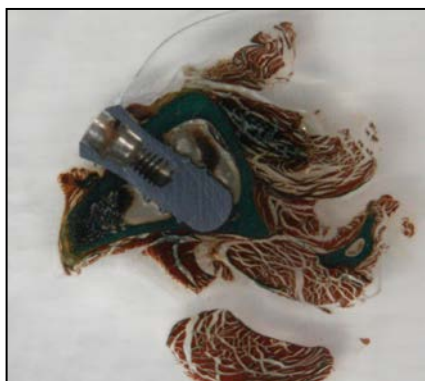


Figura 27



Figura 28

2.3.11. Muestra de animal de experimentación nº5, extremidad izquierda, epífisis, con BIC 53,9%. Presencia de tejido fibroso en el cuello del implante y en zonas alejadas de hueso primitivo (Figuras 29 y 30).



Figura 29

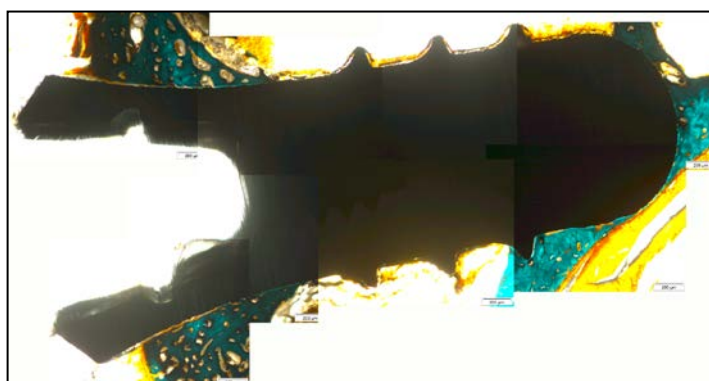


Figura 30

## RESULTADOS

2.3.12. Muestra de animal de experimentación nº5, extremidad izquierda, diáfisis, con BIC 50%. Presencia de tejido fibroso en uno de los lados del cuello y en el ápice del implante (Figuras 31 y 32).

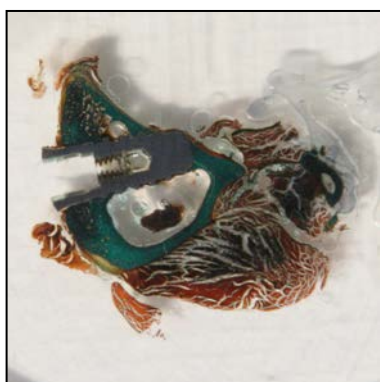


Figura 31

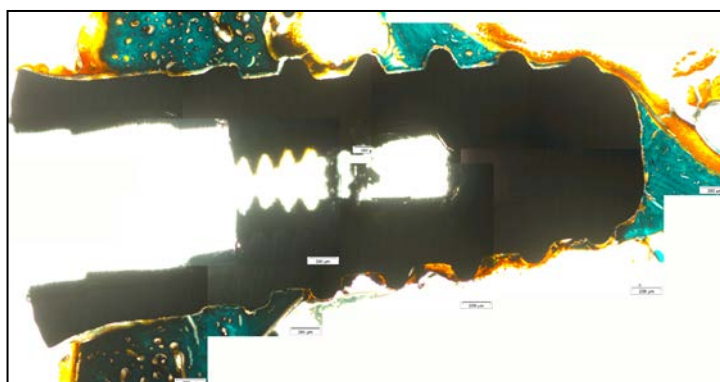


Figura 32

2.3.13. Muestra de animal de experimentación nº6, extremidad derecha, epífisis, con BIC 36,6%. Pérdida parcial hueso cortical en región cercana al cuello (Figuras 33 y 34).

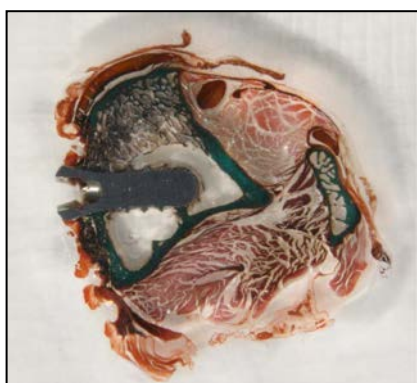


Figura 33

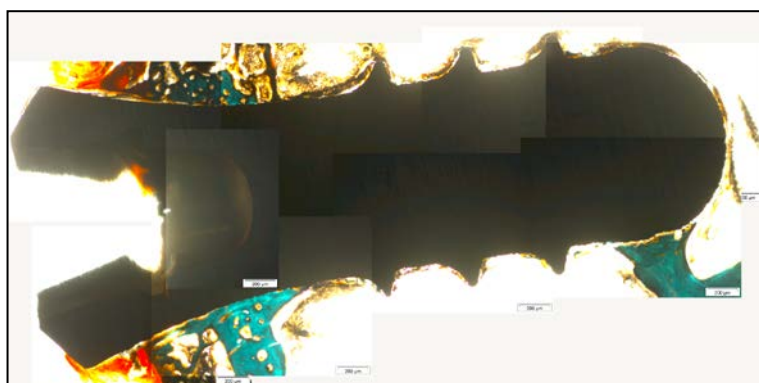


Figura 34

## RESULTADOS

2.3.14. Muestra de animal de experimentación nº6, extremidad derecha, diáfisis, con BIC 63,1%. Espesor de hueso cortical desigual en ambos lados del cuello (Figuras 35 y 36).

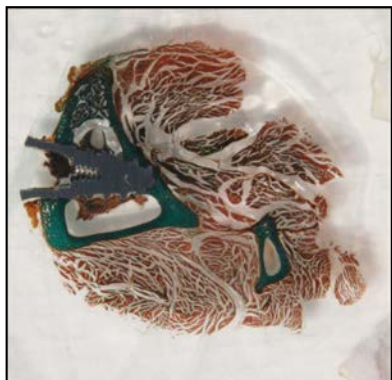


Figura 35

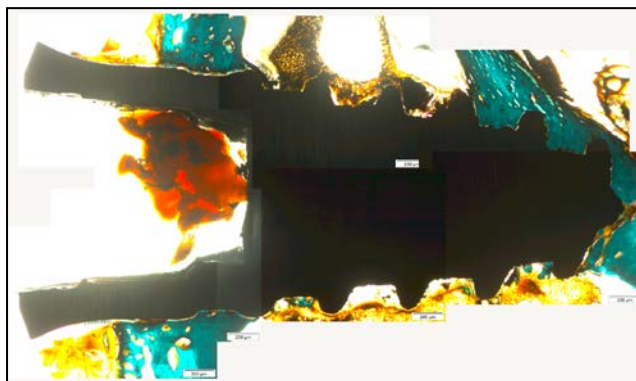


Figura 36

2.3.15. Muestra de animal de experimentación nº6, extremidad izquierda, epífisis, con BIC 60,3% (Figuras 37 y 38).

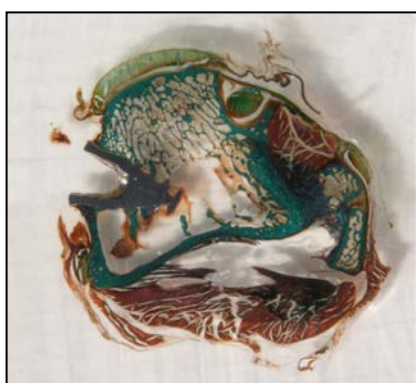


Figura 37

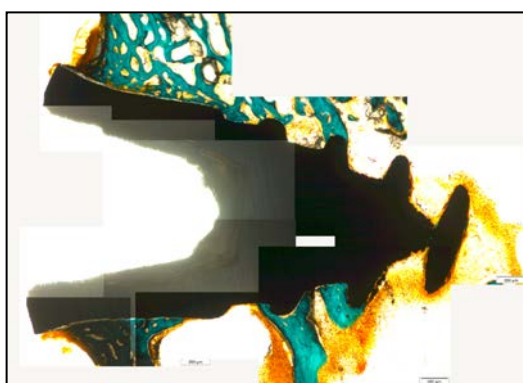


Figura 38

## RESULTADOS

2.3.16. Muestra de animal de experimentación n°6, extremidad izquierda, diáfisis, con BIC 74,8%. Pérdida parcial hueso cortical alrededor del cuello del implante (Figuras 39 y 40).



Figura 39

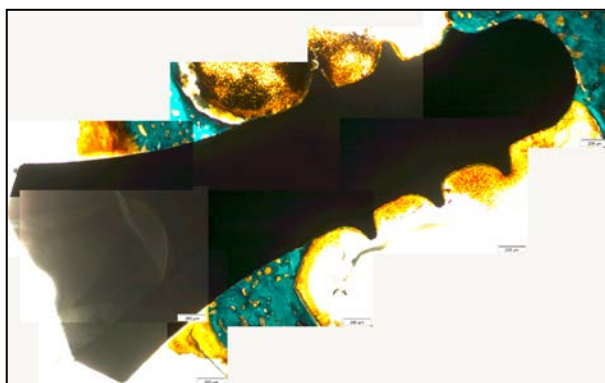


Figura 40

2.3.17. Muestra de animal de experimentación n°7, extremidad derecha, epífisis, con BIC 42,4% (Figuras 41 y 42).



Figura 41

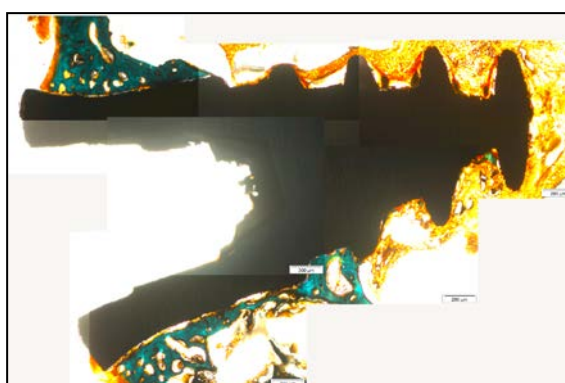


Figura 42



## RESULTADOS

2.3.18. Muestra de animal de experimentación nº7, extremidad derecha, diáfisis, con BIC 74,8%. Presencia de tejido fibroso en el cuello del implante que impide contacto directo (Figuras 43 y 44).



Figura 43

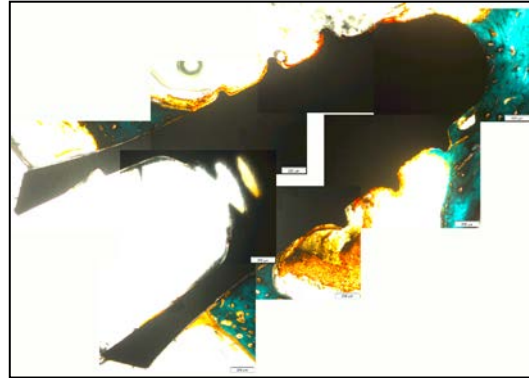


Figura 44

2.3.19. Muestra de animal de experimentación nº7, extremidad izquierda, epífisis, con BIC 46%. Significativa pérdida de masa ósea en el cuello del implante (Figuras 45 y 46).

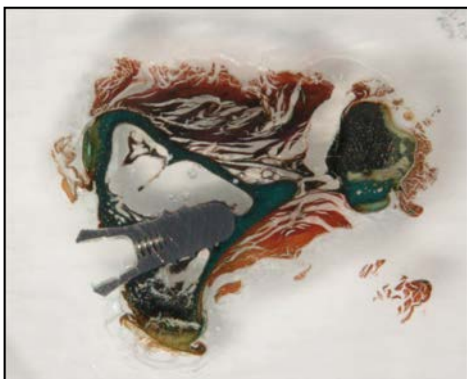


Figura 45

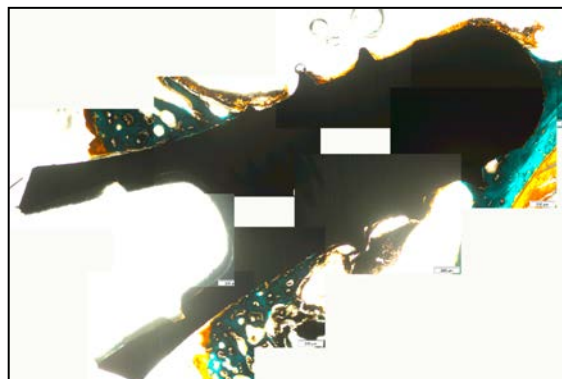


Figura 46

## RESULTADOS

2.3.20. Muestra de animal de experimentación nº7, extremidad izquierda, diáfisis, con BIC 57,8%. Elevada presencia de tejido fibroso en los filetes sin contacto con hueso primitivo (Figuras 47 y 48).

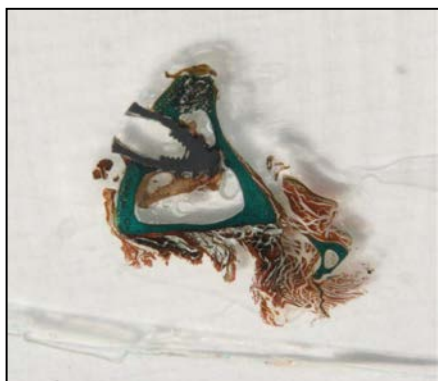


Figura 47

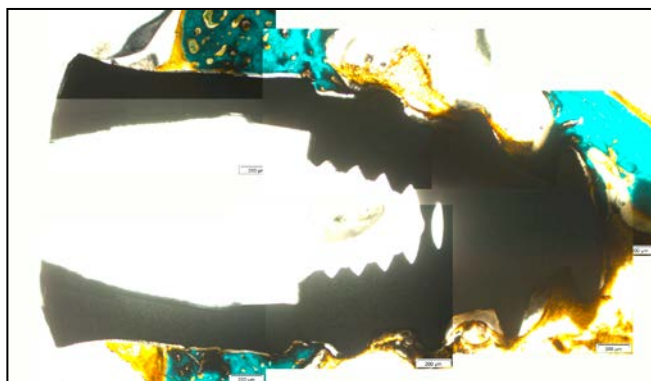


Figura 48

# DISCUSSION

## DISCUSION

Los implantes dentales han sido utilizados para el tratamiento de los dientes perdidos, particularmente en hueso cicatrizado. Los implantes de titanio han sido ampliamente utilizados para la rehabilitación de los dientes unitarios, mediante coronas unitarias, pérdida de algunos dientes mediante puentes fijos, o pérdida total mediante una rehabilitación fija o una sobredentadura <sup>101-102</sup>.

El titanio es un excelente material debido a sus propiedades físicas, especialmente, su estabilidad, resistencia y elasticidad. Además, el titanio es muy estable in vivo y biocompatible, lo que estimula la oseointegración <sup>103</sup>. El éxito a largo plazo del tratamiento con implantes depende del establecimiento de la oseointegración después de su inserción quirúrgica. La oseointegración está influenciada por varios factores como son el volumen y calidad del hueso, la localización del lecho implantario y las características macro y microscópicas de los implantes <sup>104-105</sup>.

El establecimiento de la unión hueso-implante es un complejo fenómeno biológico que no está claramente comprendido. Existe un creciente interés en la investigación de los fenómenos tempranos que tienen lugar en la interfase durante el proceso de cicatrización. La superficie de los implantes pueden jugar un importante papel en conseguir la oseointegración <sup>106</sup>. Las modificaciones de la superficie de los implantes que afectan a su rugosidad y que alteran su composición química pueden mejorar las interacciones biológicas entre los implantes y el tejido óseo del huésped, acelerando la oseointegración <sup>106-107</sup>. Estas modificaciones en la superficie de los implantes incrementan la viabilidad celular y la biocompatibilidad <sup>108</sup>.



## DISCUSION

Teniendo en cuenta la gran variedad de factores que pueden influir en el éxito de la oseointegración, es necesario la realización de estudios experimentales y clínicos que clarifiquen el papel y la importancia de cada uno de ellos en el éxito del tratamiento implantológico. Diversos animales de experimentación (ej. perros, cerdos, conejos, ratas) han sido utilizados para la investigación in vivo de los materiales relacionados con los implantes dentales. Los conejos presentan algunas ventajas para ser utilizados como modelo animal para testar las superficies de implantes <sup>109</sup>.

En el presente estudio doctoral se han utilizado como animal de experimentación los conejos blancos de raza Nueva Zelanda que ha sido utilizado en muchos estudios histológicos e histomorfométricos relacionados con la implantología oral <sup>110-117</sup>. La localización más frecuente en este animal de experimentación para la inserción de los implantes es la tibia; sin embargo, el fémur es la segunda localización elegida como se ha realizado en el presente trabajo <sup>110-117</sup>.

Actualmente, el conejo blanco Nueva Zelanda sigue siendo un animal de experimentación utilizado para estudiar la respuesta ósea a la inserción de implantes, especialmente relacionada con la superficie, como demuestran tres estudios histológicos recientes <sup>86,116-117</sup>. Un primer estudio analiza la influencia de la superficie de implante en 4 tipos de superficies, (arenada, grabada con ácidos recubierta de hidroxiapatita, grabada con ácidos y arenada+grabada) en tibia de conejos <sup>86</sup>. Los investigadores encuentran una clara tendencia a mejores resultados en la arenada+grabada y en la recubierta por hidroxiapatita, aunque sin diferencias significativas <sup>86</sup>. Los implantes estaban en contacto predominantemente con el hueso

## DISCUSION

cortical a lo largo de las estrías cervicales, y con la médula ósea en el resto del cuerpo de los implantes. Se describió una demacración entre el hueso neoformado y el hueso primitivo <sup>86</sup>.

Un estudio similar investiga los efectos de las modificaciones de las superficies en respuestas óseas *in vivo* para comparar superficies arenadas hidrofílicas, arenadas, arenadas+grabadas, SLA y anodizadas <sup>116</sup>. Los resultados sugieren que la superficie SLA hidrofílica presentaba una mayor afinidad por el tejido óseo que la anodizada durante el proceso temprano de cicatrización. De hecho, el estudio describe un mayor contacto de coágulos sanguíneos con la superficie SLA <sup>116</sup>.

Finalmente, un estudio ha demostrado la importancia de las propiedades físicas y químicas de la superficie de implantes para su integración en el tejido óseo vivo de los conejos Nueva Zelanda <sup>117</sup>. En este trabajo se compararon tres tipos de superficies (mecanizada, anodizada y SLA) que fueron preparadas para su implantación en el fémur de los animales. Todas las superficies se oseointegraron, aunque no hubo diferencias significativas entre ellas con respecto al grado de oseointegración <sup>117</sup>.

Los resultados histológicos e histomorfométricos del presente estudio de investigación doctoral confirman la elección de los conejos Nueva Zelanda como animales de experimentación en implantología oral para evaluar el grado de oseointegración, ya que el comportamiento biológico, a nivel microscópico fué muy favorable. De hecho, no existieron alteraciones morfológicas en el tejido óseo y la histomorfometría demostró

## DISCUSION

un excelente contacto hueso-implante entre la superficie de los implantes y el tejido óseo de los animales.

En el presente estudio doctoral se han utilizado implantes con un diseño macroscópico cónico que favorece la técnica quirúrgica implantológica por su capacidad autorroscante. Son implantes roscados en forma de raíz, que consiguen una buena estabilidad primaria con el hueso y que han demostrado unos excelentes resultados experimentales y clínicos <sup>118</sup>. De hecho, como demuestran los resultados del presente estudio de investigación doctoral, los implantes se insertaron de forma adecuada en el fémur de los animales de experimentación con un buen anclaje y consiguieron la integración con el tejido óseo con una favorable respuesta biológica.

La superficie de los implantes dentales constituye el puente de unión con el tejido óseo del huésped y hace posible el fenómeno biológico de la oseointegración. La oseointegración es una compleja secuencia de sucesos biológicos, como la proliferación celular, la inducción de los genes relacionados con la maduración y organización del hueso y finalmente con la fase de mineralización de la matriz <sup>119</sup>.

Diferentes tratamientos de la superficie de titanio pueden modificar las propiedades de la microestructura del implante y favorecer la afinidad por el proceso de formación ósea. Las propiedades de la morfología de la superficie juegan un papel crítico en la absorción de moléculas, la adhesión celular y la maduración de las células osteoblásticas <sup>119</sup>.

## DISCUSION

La rugosidad y las características topográficas son de los aspectos más relevantes de la superficie de implantes para el éxito de la oseointegración. La topografía afecta a la interacción celular, que influye en la orientación, migración, crecimiento y diferenciación de las células que se adhieren a la superficie. Las investigaciones *in vitro* e *in vivo* han demostrado que la rugosidad de la superficie estimula la oseointegración de los implantes dentales <sup>108,120</sup>.

El grado de rugosidad de la superficie de los implantes, su química, su topografía, y su humectabilidad pueden afectar a la función celular, la adhesión y la viabilidad. El desarrollo de la interfase hueso-implante depende de las directas interacciones de los osteoblastos y la posterior deposición de matriz ósea que son esenciales para la oseointegración. Las células humanas cultivadas sobre las superficies de los implantes tratadas (ej. arenadas, grabadas) muestran más signos de diferenciación celular que las cultivadas sobre superficies mecanizadas <sup>108</sup>.

El grado de rugosidad puede obtenerse por diversos tratamientos, arenado, grabado ácido, anodización por oxidación <sup>120</sup>. La anodización modifica la composición química de la superficie con un grado importante de cristalinidad <sup>121</sup>. En animales de experimentación, la superficie anodizada presenta propiedades osteoconductoras <sup>122</sup>. La superficie anodizada presentan un grado moderado de rugosidad que acelera la oseointegración por un estímulo directo del crecimiento óseo, durante las fases tempranas de la cicatrización <sup>123</sup>.

## DISCUSION

Las superficies arenadas y grabadas (SLA) combinan el arenado con partículas como la alúmina y secuencialmente un grabado ácido que obtiene un macrorrugosidad con micropicos que incrementa el nivel de rugosidad para favorecer la oseointegración <sup>107,120</sup>. Esta superficie proporciona un gran espacio para la unión celular, la proliferación y el crecimiento de los osteoblastos <sup>124</sup>. Además, la superficie tratada de los implantes con arenado seguida de grabado ácido estimula mejor la oseointegración durante la fase de cicatrización, indicando una mayor bioactividad <sup>125</sup>.

El prototipo de los implantes con la superficie mecanizada fué el desarrollado por el grupo sueco de la Universidad de Gotemburgo, liderado por Branemark <sup>126</sup>. Aunque su superficie se consideraba lisa, sin embargo el proceso de fresado y pulido creaba algunas irregularidades mínimas que le daban cierto carácter de rugosidad, por lo que se aceptaba más el término de mecanizada <sup>126</sup>.

De todas las superficies de implantes, la mecanizada es la que fue muy estudiada al comienzo de la implantología en el laboratorio ya que los estudios pioneros de Branemark fueron realizados con este tipo de superficie, concluyendo en el concepto de oseointegración que definía la naturaleza de la unión del titanio al hueso de una forma estable y predecible, como el “ *contacto directo entre el hueso vivo y la superficie del implante cargado funcionalmente sin interposición de tejido blando a nivel del microscopio óptico* “ <sup>127</sup>.

El presente estudio doctoral evalúa la respuesta ósea a 4 tipos de superficies. Las superficies analizadas fueron mecanizada, arenada con

## DISCUSION

alúmina, grabada con ácido sulfúrico y anodizadas con ácido clorhídrico y un voltaje de 320 v. Todas las superficies demostraron su capacidad de integrarse con el tejido óseo del animal de experimentación, como demuestran las imágenes microscópicas obtenidas.

Los resultados del presente estudio doctoral demuestran un incremento de la relación hueso-implante (BIC) entre las 4 y las 10 semanas para todas las superficies estudiadas que claramente muestran una afinidad parcial o total en la inducción de la formación de tejido óseo nuevo. En este sentido, una mayor rugosidad induce una mayor área de BIC, demostrando una capacidad osteoconductiva de atraer los osteoblastos para la neoformación ósea. Los resultados claramente muestran mayores valores significativos de BIC para las superficies arenadas después de las 4 semanas y 10 semanas de la implantación <sup>115</sup>.

Además de las diferentes superficies para valorar el porcentaje de contacto hueso-implante (BIC), es importante también el periodo de tiempo estudiado *in vivo* del animal. En nuestro trabajo doctoral, se sacrificaron los animales a las 4 y 10 semanas de la implantación. Otras investigaciones han realizado sus estudios histológicos e histomorfométricos a las 12 semanas <sup>109-110</sup>. Sin embargo, en otros estudios, la histología se realizó entre las 3-6 semanas <sup>111-112</sup>.

Estas diferencias en los periodos de tiempo *in vivo* estudiados pueden también explicar los diferentes rangos de contacto hueso-implantes, ya que los fenómenos biológicos de la cicatrización ósea están también relacionados con el tiempo <sup>109,128</sup>.

## DISCUSION

Algunos de los estudios de experimentación animal presentaban un mayor porcentaje de BIC conforme se incrementaba el tiempo *in vivo* del estudio <sup>108,111</sup>. Esta tendencia coincide con los resultados del presente estudio doctoral que confirman como el grado de oseointegración se incrementa conforme aumenta el tiempo de sacrificio de los animales los hallazgos histológicos del presente estudio de investigación doctoral.

Un estudio reciente realizado en conejos valora la importancia del periodo de cicatrización en los estudios experimentales <sup>129</sup>. La oseointegración de 2 superficies de implantes (arenada+grabada, grabada con fluorhídrico) fue testada mediante su implantación en la tibia de los animales. Los animales fueron divididos en 4 grupos y sacrificados después de 5, 8, 15 y 30 días. Después de los diferentes tiempos de cicatrización, los porcentajes de hueso nuevo en la diáfisis de la tibia fueron de 15.1%, 27.5%, 47.8%, y 38.7% <sup>129</sup>.

En general, cuando se comparan estudios histomorfométricos de implantes, es necesario, pues, valorar los diferentes métodos de cuantificación histológica, los periodos de cicatrización, los modelos animales y los diferentes tipos macroscópicos de implantes (ej. estrías) y superficies. Además, no hay que olvidar que los hallazgos histológicos no siempre son extrapolables a los resultados clínicos de su utilización en pacientes <sup>109,128</sup>.

Las diferentes investigaciones, han demostrado que las superficies arenadas han demostrado una intensa respuesta ósea en el hueso de conejos a lo largo de un periodo de cicatrización de 1 año. Para una rugosimetría media ( $S_a$ ) de 0,6 a 2,1  $\mu m$ . Este incremento en la unión hueso-implante se

## DISCUSION

corresponde con una drástica fijación biomecánica expresada por los valores elevados del torque de desinserción <sup>130</sup>.

Las superficie arenada ensayada en el presente estudio doctoral confirma la excelente respuesta ósea obtenida ya que a las 4 semanas presentaba un BIC cercano al 60%, significativamente mayor que las otras superficies (mecanizada, grabada y anodizada). El arenado con alúmina representa una forma de incrementar la rugosidad del implante con un material que favorece la respuesta celular y acelera el ritmo de la oseointegración <sup>115</sup>.

Así, las modificaciones topográficas sobre la superficie del titanio pueden ayudar a la estabilización de la frágil matriz extracelular con fibrina con capacidad osteoconductiva para guiar a las células hacia la superficie del implante (guía de contacto) <sup>131</sup>.

De esta forma, los efectos específicos-topográficos sobre la superficie del titanio influyen en la conducta adherente de las células osteoblásticas, lo que se traduce en que un incremento en la topografía superficial impulsa de forma efectiva la síntesis de matriz extracelular por parte de las células adherentes y produce una mayor y más rápida respuesta osoeintegradora <sup>131</sup>.

Es decir, un papel claro y esencial de los receptores de las proteínas de la matriz extracelular (integrinas) sería la de traducir la topografía de la superficie del implante en señales específicas para la adhesión celular. Un posible camino de cómo la topografía puede alterar la diferenciación celular es a través de imponer cambios en la forma de las células <sup>131</sup>.



## DISCUSION

Un estudio evalúa los cambios tempranos en la oseointegración después de la inserción de implantes en la tibia de conejos Nueva Zelanda<sup>132</sup>. Dos superficies fueron ensayadas, SLA y mecanizada. 4 horas después de la implantación se observa un importante gap entre la osteotomía y la superficie del implante. Un coagulo de células sanguíneas con un entramado de fibrina rellena el gap. Se observa una infiltración inflamatoria principalmente de neutrófilos y células degenerativas a lo largo de la interfase hueso-implante de ambas superficies testadas . Algunos chips de cortical y esponjosa del huésped alterados por el fresado se encuentran adyacentes a ambas superficies de los implantes<sup>132</sup>.

A los 3 días, una nueva formación de tejido osteoide es rápidamente originada en la superficie tratada SLA, comparada con la superficie mecanizada. Específicamente, existe una mayor y denso estroma conectivo, ricamente vascularizado con signos de reabsorción ósea. Consecuentemente, algunos osteoblastos comienzan a depositar un nuevo tejidos osteoide en estos primeros días de la cicatrización ósea<sup>132</sup>.

A los 6 días, se observan cambios morfológicos entre ambas superficies. En la superficie SLA, se aprecian osteoblastos cuboidales que depositan una intensa matriz osteoide caracterizada por la presencia de amplias lagunas de osteocitos. En contraste, en la superficie mecanizada solamente se detectan algunas células cuboidales y la mayoría son elongadas. Estos hallazgos son compatibles con una mayor diferenciación celular en las superficies microrrugosas de los implantes<sup>132</sup>.

## DISCUSION

Desde un punto de vista experimental, el proceso de la oseointegración depende de un número de variables con varios parámetros que es difícil estandarizar con respecto al tipo de estudio y a los factores con influencia potencial. Consecuentemente, estas variables pueden determinar la frecuencia y extensión de la oseointegración en varios periodos de tiempo y en varias especies animales <sup>109</sup>.

Se ha sugerido y reconocido que la fase temprana de la oseointegración en el modelo animal es el doble de efectiva que en los humanos. Sin embargo, no está unánimemente aceptado que la metodología para evaluar la oseointegración pueda comparar los resultados de los diferentes estudios. En este sentido, es difícil de determinar una comparación paralela de los procesos biológicos de la oseointegración, ya que por ejemplo, la oseointegración está muy influenciada por el modelo de especie utilizado. El conejo es un modelo más rápido que el modelo canino que a la vez es más rápido que el modelo humano <sup>109,129</sup>.

# CONCLUSIONES

## CONCLUSIONES

PRIMERA. Macroscópicamente, la totalidad de los especímenes presentaron una anatomía normal con un proceso de cicatrización ósea habitual alrededor de los implantes insertados.

SEGUNDA. Los 4 tipos de superficies (mecanizada, arenada, grabada y anodizada) demostraron su biocompatibilidad y se oseointegraron demostrando una respuesta biológica favorable.

TERCERA. La superficie obtenida por arenado con alúmina consiguió establecer un contacto hueso-implante superior a las demás superficies ensayadas.

CUARTA. La superficie obtenida por mecanización consiguió establecer un contacto hueso-implante inferior a las demás superficies ensayadas.

QUINTA. El porcentaje de unión hueso-implante (BIC) se incrementó entre las 4 y 10 semanas de oseointegración en todas las superficies.

SEXTA. Los estudios histológicos e histomorfométricos en animales de experimentación son imprescindibles para conocer los mecanismos de la oseointegración de los implantes dentales.

# BIBLIOGRAFIA

## BIBLIOGRAFIA

1. Reyes JO, Hernández CP. Historia de la implantología dental. Revisión bibliográfica. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2008; 3: 81-85.
2. Gómez M, Ávila R. Evolución histórica de la implantología dental. *Rev Esp Estomatol* 1988; 36: 303-310.
3. Linkow LI, Cherchève R, Jones M. Theories and techniques of oral implantology. London: C.V. Mosby; 1970.
4. Strock AE. Experimental work on a method for the replacement of missing teeth by direct implantation of a metal support into the alveolus. *Am J Orthodont Oral Surg* 1939; 25: 467-472.
5. Hobo S, Ichida E, Garcia LT. Osseointegration and Oclusal Rehabilitation. Chicago: Quintessence, 1989: 150.
6. Weiss C. Oral Implantology. Barcelona: Doyma C.A.1986; pp:467-487.
7. Albrektsson T, Zarb GA. Current interpretations of the osseointegrated response: clinical significance. *Int J Prosthodont* 1993; 6: 95-105.
8. Schroeder A, Pohler O, Sutter F. Tissue reaction to an implant of a titanium hollow cylinder with a titanium surface spray layer. *SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd.* 1976; 86: 713-27.
9. Buser D, Weber HP, Lang NP. Tissue integration of non-submerged implants. 1-year results of a prospective study with 100 ITI hollow-cylinder and hollow-screw implants. *Clin Oral Implants Res* 1990; 1: 33-40.
10. Warrer K, Karring T, Gotfredsen K. Periodontal ligament formation around different types of dental titanium implants. I. The self-tapping screw type implant system. *J Periodontol* 1993; 64: 29-34.
11. Misch C. *Implantologia contemporánea*. Ed 3ª: Barcelona: Elsevier; 2009.
12. Valderrama P, Bornstein MM, Jones AA, Wilson TG, Higginbottom FL, Cochran DL. Effects of implant design on marginal bone changes around early loaded, chemically modified, sandblasted Acid-etched-

## BIBLIOGRAFIA

- surfaced implants: a histologic analysis in dogs. *J Periodontol* 2011; 82: 1025-1034.
13. Davies JE. Understanding peri-implant endosseous healing. *J Dent Educ* 2003; 67: 932-949.
14. Osborn JF, Newesely H. Dynamic aspects of the implant-bone interface. En: Heimke G, ed. *Dental Implants: materials and systems*. Munich: Verlag; 1980:111-23.
15. Zarb GA, Albrektsson T. Osseointegration: A requiem for the periodontal ligament? *Int J Per Rest Dent* 1991; 11: 88-91.
16. Echeverria M, Bernal G. *Oseointegración*. Bogotá: ECOE Ediciones.1995; p: 181.
17. Meredith N, Alleyne D, Cawley P. Quantitative determination of the stability of the implanttissue interface using resonance frequency analysis. *Clin Oral Impl Res* 1996; 7: 261-267.
18. Fernández-Tresguerres I, Alobera MA. Bases fisiológicas de la regeneración ósea II. El proceso de remodelado. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006; 11: 151-157.
19. Tresguerres IF, Clemente C, Donado M, Gómez-Pellico L, Blanco L, Alobera MA, Tresguerres JA. Local administration of growth hormone enhances periimplant bone reaction in an osteoporotic rabbit model. *Clin Oral Implants Res* 2002; 13: 631-636.
20. Tresguerres IF, Alobera MA, Baca R, Tresguerres JA. Histologic, morphometric, and densitometric study of peri-implant bone in rabbits with local administration of growth hormone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005; 20: 193-202.
21. Trisi P, Quaranta M, Emanuelli M, Piattelli A. A light microscopy, scanning electron microscopy, and laser scanning microscopy analysis of

## BIBLIOGRAFIA

retrieved blade implants after 7 to 20 years of clinical function. A report of 3 cases. *J Periodontol.* 1993; 64: 374-378.

22. Lynch SE, Buser D, Hernandez RA, Weber HP, Stich H, Fox CH, Williams RC. Effects of the platelet-derived growth factor/insulin-like growth factor-I combination on bone regeneration around titanium dental implants. Results of a pilot study in beagle dogs. *J Periodontol* 1991; 62: 710-716.

23. Abtahi J, Tengvall P, Aspenberg P. A bisphosphonate-coating improves the fixation of metal implants in human bone. A randomized trial of dental implants. *Bone* 2012; 50: 1148-1151.

24. Ledermann PD. Stegprothetische Versorgung des zahnlosen Unterkiefers mit Hilfe von plasmabeschichteten Titan-schraubenimplantaten. *Dtsch Zahnarztl Z* 1979; 34: 907-11.

25. Brånemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindström J, Hallén O, Ohman A. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10 years period. *Scand J Plas Reconstr Surg Supl* 1977; 16: 1-132.

26. Lemons JE. Biomaterials, biomechanics, tissue healing, and immediate-function dental implants. *J Oral Implantol* 2004; 30: 318-324.

27. Lacefield WR. Current status of ceramic coatings for dental implants. *Implant Dent* 1998; 7: 315-322.

28. Makihiro S, Mine Y, Kosaka E, Nikawa H. Titanium surface roughness accelerates RANKL-dependent differentiation in the osteoclast precursor cell line, RAW264.7. *Dent Mater J* 2007; 26: 739–745.

29. Yang Y, Kim KH, Ong JL. A review on calcium phosphate coatings produced using a sputtering process—an alternative to plasma spraying. *Biomaterials* 2005; 26: 327–337.



## BIBLIOGRAFIA

30. Liebschner MA. Biomechanical considerations of animal models used in tissue engineering of bone. *Biomaterials* 2004; 25: 1697–1714.
31. Coelho PG, Cardaropoli G, Suzuki M, Lemons JE. Early healing of nanothickness bioceramic coatings on dental implants. An experimental study in dogs. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2009; 88: 387–393.
32. Park YS, Yi KY, Lee IS, Han CH, Jung YC. The effects of ion beam-assisted deposition of hydroxyapatite on the gritblasted surface of endosseous implants in rabbit tibiae. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005; 20: 31–38.
33. Butz F, Aita H, Wang CJ, Ogawa T. Harder and stiffer bone osseointegrated to roughened titanium. *J Dent Res* 2006; 85: 560–565.
34. Wennerberg A, Albrektsson T. Suggested guidelines for the topographic evaluation of implant surfaces. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000; 15: 331-344.
35. Glauser R, Schupbach P, Gottlow J, Hämmerle CH. Periimplant soft tissue barrier at experimental one-piece mini-implants with different surface topography in humans: a light-microscopic overview and histometric analysis. *Clin Implant Dent Relat Res* 2005; 7: 44-51.
36. Juanli Guo, Padilla R, Ambrose W, De Kok IJ, Cooper LF. The effect of hidrofluoric acid treatment of TiO<sub>2</sub> grit blasted titanium implants on adherent osteoblast gene expresión in vitro and in vivo. *Biomaterials* 2007; 28: 5418-5425.
37. Viornerly C, Guenther HL, Aronsson BO, Péchy P, Descouts P, Grätzel M. Osteoblast culture on polished titanium disck modified with phosphonic acid. *J Biomed Mater Res* 200; 62: 149-155.
38. Albrektsson T. Oral implants surfaces: Part1, review focusing on topographic and chemical properties of different surfaces and in vivo reponses to them. *Int J Prosthodont* 2004; 17: 536-43.

## BIBLIOGRAFIA

39. Gotfredsen K, Karlsson U. A prospective 5-year study of fixed partial prostheses supported by implants with a machined and TiO<sub>2</sub> blasted surface. *J Prosthodont* 2001; 10: 2-7.
40. Rice JM, Hunt JA, Gallagher JA, Hanarp P, Sutherland DS, Gold J. Quantitative assessment of the response of primary derived human osteoblast and macrophages to a range of nanotopography surfaces in a single culture model in vitro. *Biomaterials* 2003; 24: 4799-4818.
41. Baier RE. Surface preparation. *J Oral Implantol* 1986; 12: 387-395.
42. Smith DC, Pillar RM, Metson JB, McIntyre NS. Dental implant materials. II. Preparative procedures and surface spectroscopic studies. *J Biomed Mater Res* 1992; 25: 1069-1084.
43. Smith DC. Dental implants: Materials and design considerations. *Int J Prosthodont* 1993; 6: 106-117.
44. Cochran DL, Simpson J, Weber HP, Buser D. Attachment and growth of periodontal cells on smooth and rough titanium. *Int J Maxillofac Implants* 1994; 9: 611-619.
45. Cooper LF, Masuda T, Whitson SW, Yliheikkilä P, Felton DA. Formation of mineralizing osteoblast cultures on machined titanium surface. *Int J Maxillofac Implants* 1999; 14:37-34.
46. Brunski JB, Puleo DA, Nanci A. Biomaterials and biomechanics of oral and maxillofacial implants: current status and future developments. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000; 15: 15-46.
47. Lemons JE, Dietrich-Misch F. Biomateriales para implantes dentales. En: Misch C. *Implantología contemporánea* Barcelona: Elsevier. 2008 p 511-543.
48. Abrahamsson I, Berglundh T, Linder E, Lang NP, Lindhe J. Early bone formation adjacent to rough and turned endosseous implant surfaces. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res* 2004; 15: 381–392.

## BIBLIOGRAFIA

49. Giavaresi G, Fini M, Cigada A, Chiesa R, Rondelli G, Rimondini L, Aldini NN, Martini L, Giardino R. Histomorphometric and microhardness assessments of sheep cortical bone surrounding titanium implants with different surface treatments. *J Biomed Mater Res A* 2003; 67: 112–120.
50. Le Guehennec L, Soueidan A, Layrolle P, Amourig Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dent Mater* 2007; 23: 844–854.
51. Cho SA, Park KT. The removal torque of titanium screw inserted in rabbit tibia treated by dual acid etching. *Biomaterials* 2003; 24: 3611–3617.
52. Trisi P, Marcato C, Todisco M. Bone-to-implant apposition with machined and MTX microtextured implant surfaces in human sinus grafts. *Int J Perio Rest Dent* 2003; 23: 427–37.
53. Novaes Jr AB, Papalexiou V, Grisi MF, Souza SS, Taba M Jr, Kajiwar JK. Influence of implant microstructure on the osseointegration of immediate implants placed in periodontally infected sites. A histomorphometric study in dogs. *Clin Oral Implants Res* 2004; 15: 34–43.
54. Velasco E, Pérez O, Medel R, Segura JJ, Torres R. La carga precoz de los implantes unitarios con superficie grabada con ácidos. *Arch Odontoestomatol* 2004; 20: 239-247.
55. Velasco E, Pérez O, Medel R, Segura JJ, Torres R. La carga precoz de los implantes no sumergidos con superficie grabada con ácidos en sobredentaduras mandibulares. *Arch Odontoestomatol* 2003; 19: 308-16.
56. Velasco E, Medel R, Linares Cancedo D, Monsalve Cuil L, Velasco Ponferrada C. Los implantes de titanio con superficie grabada con ácidos. Un seguimiento clínico de 2 años. *Av Perio Impl Oral* 2004; 16: 179-186.
57. Yokoyama K, Ichikawa T, Murakami H, Miyamoto Y, Asaoka K. Fracture mechanisms of retrieved titanium screw thread in dental implants. *Biomaterials* 2002; 23: 2459–2465.

## BIBLIOGRAFIA

58. Berglundh T, Abrahamsson I, Albouy JP, Lindhe J. Bone healing at implants with a fluoride-modified surface: An experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res* 2007; 18: 147–152.
59. Masaki C, Schneider GB, Zaharias R, Seabold D, Stanford C. Effects of implant surface microtopography on osteoblast gene expression. *Clin Oral Implants Res* 2005; 16: 650–656.
60. Ellingsen JE. Pre-treatment of titanium implants with fluoride improves their retention in bone. *J Mater Sci Mater Med* 1995; 6: 749-758.
61. Sul YT, Johansson CB, Röser K, Albrektsson T. Qualitative and quantitative observations of bone tissue reactions to anodised implants. *Biomaterials* 2002; 23: 1809-1817.
62. Rupp F, Scheideler L, Olshanska N, de Wild M, Wieland M, Geis-Gerstorfer J. Enhancing surface free energy and hydrophilicity through chemical modification of microstructured titanium implant surfaces. *J Biomed Mater Res A* 2006; 76: 323-334.
63. Al-Nawas B, Groetz KA, Goetz H, Duschner H, Wagner W. Comparative histomorphometry and resonance frequency analysis of implants with moderately rough surfaces in a loaded animal model. *Clin Oral Implants Res* 2008; 19: 1-8.
64. Jarcho M, Kay JF, Gumaer KI, Doremus RH, Drobeck HP. Tissue cellular and subcellular events at the bone-ceramic hydroxyl apatite interface. *J Bioeng* 1977; 1: 259-278.
65. Ducheyne P, Qui Q. Bioactive ceramics: The effect of surface reactivity on bone formation and bone cell function. *Biomaterials* 1999; 20: 2287-2296.
66. Kim H, Camata RP, Vohra YK, Lacefield WR. Control of phase composition in hydroxyapatite/tetracalcium phosphate biphasic thin

## BIBLIOGRAFIA

- coatings for biomedical applications. *J Mater Sci Mater Med* 2005; 16: 961-966.
67. Davies JE. Bone bonding at natural and biomaterial surfaces. *Biomaterials* 2007; 28: 5058-5067.
68. Mendes VC, Moineddin R, Davies JE. Discrete calcium phosphate nanocrystalline deposition enhances osteoconduction on titanium-based implant surfaces. *J Biomed Mater Res A* 2009, 90: 577-585.
69. Wikesjö U, Sorensen RG, Kinoshita A, Wozney JM. rhBMP-2/ $\alpha$ BSM induces significant vertical alveolar ridge augmentation and dental implant osseointegration. *Clin Implant Dent Relat Res* 2002; 4: 174-182.
70. Nakade O, Koyama H, Arijji H, Yajima A, Kaku T. Melatonin stimulates proliferation and type 1 collagen synthesis in human bone cells in vitro. *J.Pineal Res* 1999; 27: 106-110.
71. Cutando A, Gómez-Moreno G, Arana C, Muñoz F, Lopez-Peña M, Stephenson J, Reiter RJ. Melatonin stimulates osteointegration of dental implants. *J Pineal Res* 2008 Feb 19; Vol. 49.
72. Roth JA, Kim BG, Lin WL, Cho MI. Melatonin promotes osteoblast differentiation and bone formation. *J Biol Chem* 1999; 274: 22041-7.
73. Calvo-Guirado JL, Gómez-Moreno G, Barone A, Cutando A, Alcaraz-Baños M, Chiva F, López-Marí L, Guardia J. Melatonine plus porcine bone on discrete calcium deposit implant surface stimulates osteointegration in dental implants. *J Pineal Res* 2009; 47: 164-72.
74. Solá MF, Pérez C, Martín-Del-Llano JJ, Carda-Batalla C, Labaig-Rueda C. *In vitro* preliminary study of osteoblast response to surface roughness of titanium discs and topical application of melatonin. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. En prensa.
75. Herrero-Climent M, Lázaro P, Vicente Rios J, Lluch S, Marqués M, Guillem-Martí J, Gil FJ. Influence of acid-etching after grit-blasted on

## BIBLIOGRAFIA

osseointegration of titanium dental implants: in vitro and in vivo studies. *J Mater Sci Mater Med* 2013; 24: 2047-2055.

76. Violant D, Galofré M, Nart J, Teles RP. In vitro evaluation of a multispecies oral biofilm on different implant surfaces. *Biomed Mater*. 2014; 9: 035007.

77. Lubin J, Hernandez MA, Drukteinis SE, Parker WB, Murray PE. Effectiveness of disinfection therapies and promotion of osteoblast growth on osseotite and nanotite implant surfaces. *Implant Dent* 2014; 23: 426-433.

78. Celletti R, Marinho VC, Traini T, Orsini G, Bracchetti G, Perrotti V, Piattelli A. Bone contact around osseointegrated implants: a histologic study of acid-etched and machined surfaces. *J Long Term Eff Med Implants* 2006; 16: 131-143.

79. Jimbo R, Fernandez-Rodriguez J, Sul YT, Johansson CB. Principal component analysis: a novel analysis to evaluate the characteristics of osseointegration of different implant surfaces. *Implant Dent* 2011; 20: 364-368.

80. Veis AA, Dabarakis NN, Parisis NA, Tsirlis AT, Karanikola TG, Printza DV. Bone regeneration around implants using spherical and granular forms of bioactive glass particles. *Implant Dent* 2006; 15: 386-394.

81. Streckbein P, Kleis W, Buch RS, Hansen T, Weibrich G. Bone healing with or without platelet-rich plasma around four different dental implant surfaces in beagle dogs. *Clin Implant Dent Relat Res*. 201; 16: 479-486.

82. De Fernandes EL, Unikowski IL, Teixeira ER, Costa NPD, Shinkai RS. Primary Stability of Turned and Acid-Etched Screw-Type Implants: A Removal Torque and Histomorphometric Study in Rabbits. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2007; 22: 886-892.

## BIBLIOGRAFIA

83. Martínez JM, García S, Ferrandiz J, Gonzalo JC, Cano J, Barona C. Torque de desinserción y propiedades físico-químicas de implantes dentales grabados con ácidos fluorhídrico y nítrico. Estudio experimental en perros beagle. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2006; 11: 281-85.
84. Rodríguez-Rius D, García-Saban F.J. Caracterización físico-química de la superficie de 9 implantes dentales con 3 distintos tratamientos de su perficie. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2005; 10: 58-65.
85. Amato F, Polara G. A prospective evaluation of a novel implant designed for immediate loading. *Int J Perio Rest Dent* 2014; 34: 43-49.
86. Calvo-Guirado JL, Satorres-Nieto M, Aguilar-Salvatierra A, Delgado-Ruiz RA, Maté-Sánchez de Val JE, Gargallo-Albiol J, Gómez-Moreno G, Romanos GE. Influence of surface treatment on osseointegration of dental implants: histological, histomorphometric and radiological analysis in vivo. *Clin Oral Investig* 2015; 19:509–517.
87. Sesma N, Pannuti CM, Cardaropoli G. Retrospective clinical study of 988 dual acid-etched implants placed in grafted and native bone for single tooth replacement. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2012; 27: 1243-1248.
88. Khang W, Feldman S, Hawley CE, Gunsolley J. A multi-center study comparing dual acid-etched and machined-surfaced implants in various bone qualities. *J Periodontol* 2001; 72: 1384-1390.
89. Zetterqvist L1, Feldman S, Rotter B, Vincenzi G, Wennström JL, Chierico A, Stach RM, Kenealy JN. A prospective, multicenter, randomized-controlled 5-year study of hybrid and fully etched implants for the incidence of peri-implantitis. *J Periodontol* 2010; 81: 493-501.
90. Browaeys H, Defrancq J, Dierens MC, Miremadi R, Vandeweghe S, Van de Velde T, De Bruyn H. A retrospective analysis of early and immediately loaded osseointegrated implants in cross-arch rehabilitations in

## BIBLIOGRAFIA

edentulous maxillas and mandibles up to 7 years. Clin Implant Dent Relat Res 2013; 15: 380-389.

91. Drago CJ, Lazzara RJ. Immediate occlusal loading of Osseotite implants in mandibular edentulous patients: a prospective observational report with 18-month data. J Prosthodont 2006; 15: 187-194.

92. Martens F, Vandeweghe S, Browaeys H, De Bruyn H. Peri-implant outcome of immediately loaded implants with a full-arch implant fixed denture: a 5-year prospective case series. Int J Perio Rest Dent 2014; 34: 189-197.

93. Calvo-Guirado JL, Gómez-Moreno G, Delgado-Ruiz RA, Maté Sánchez de Val JE, Negri B, Ramírez Fernández MP. Clinical and radiographic evaluation of Osseotite expanded platform implants related to crestal bone loss: a 10-year study. Clin Oral Implants Res 2014; 25: 352-358.

94. Franco M, Viscione A, Rigo L, Guidi R, Brunelli G, Avantaggiato A, Carinci F. Osseotite implants inserted into fresh frozen bone grafts. J Maxillofac Oral Surg 2009; 8: 201-204.

95. Goené R, Bianchesi C, Hüerzeler M, Del Lupo R, Testori T, Davarpanah M, Jalbout Z. Performance of short implants in partial restorations: 3-year follow-up of Osseotite implants. Implant Dent 2005; 14: 274-280.

96. Feldman S, Boitel N, Weng D, Kohles SS, Stach RM. Five-year survival distributions of short-length (10 mm or less) machined-surfaced and Osseotite implants. Clin Implant Dent Relat Res 2004; 6: 16-23.

97. Barona-Dorado C, Martínez-Rodríguez N, Torres-Lear F, Martínez-González JM. Observational study of 67 wide platform implants treated with avantblastsurface. Results at three year. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2009; 14: 183-187.



## BIBLIOGRAFIA

98. Davarpanah M, Caraman M, Szmukler-Moncler S, Jakubowicz-Kohen B, Alcolforado G. Preliminary data of a prospective clinical study on the Osseotite NT implant: 18-month follow-up. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005; 448-454.
99. Aimetti M, Romano F, Dellavia C, De Paoli S. Sinus grafting using autogenous bone and platelet-rich plasma: histologic outcomes in humans. *Int J Perio Rest Dent* 2008; 28: 585-591.
100. Asociación Española de Normalización y Certificación. Evaluación preclínica de la biocompatibilidad de los productos sanitarios usados en odontología. UNE-EN ISO 7405. Madrid: Aenor. 1999.
101. Adell R, Eriksson B, Lekholm U, Branemark PI, Jemt T. A long-term follow-up study of osseointegrated implants in the treatment of totally edentulous jaws. *Int J Oral MaxilloFac Implants* 1990 ; 5 :347 - 359.
102. Attard NJ, Zarb GA. Long-term treatment outcomes in edentulous patients with implant-fixed prostheses: The Toronto study. *In J Prosthodont* 2004; 17: 417-424.
103. Velasco-Ortega E, Jos A, Pato-Mourelo J, Cameán AM, Segura-Egea JJ. *In vitro* evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of a commercial titanium alloy for dental implant logy. *Mutat Res* 2010; 702: 17–23.
104. Coelho PG, Jimbo R, Tovar N, Estevam A, Bonfante EA. Osseointegration: hierarchical designing encompassing the micrometer, micrometer, and nanometer length scales. *Dent Mater* 2015; 31: 37-52.
105. Iezzi G, Scarano A, Di Stefano D, Arosio P, Doi K, Ricci L, Piattelli A, Perrotti V. Correlation between the bone density recorded by a computerized implant motor and by a histomorphometric analysis: A preliminary in vitro study on bovine ribs. *Clin Implant Dent Relat Res* 2015; 17:35–44.

## BIBLIOGRAFIA

106. Meirelles L, Curie F, Jacobson M, Albrektsson T, Wennerberg A. The effect of chemical and nanotopographical modifications on the early stages of osseointegration. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008 ; 23 : 641-647.
107. Wally ZJ, van Grunsven W, Claeysens F, Goodall R, Reilly GC. Porous titanium for dental implant applications. *Metals* 2015; 5: 1902-1920.
108. Velasco-Ortega E, Alfonso-Rodríguez CA, Monsalve-Guil L, España-López A, Jiménez-Guerra A, Garzón I, Alaminos M, Gil FJ. Relevant aspects in the surface properties in titanium dental implants for the cellular viability. *Mater Sci Eng C* 2016; 64: 1–10.
109. Botticelli D, Lang NP. Dynamics of osseointegration in various human and animal models - a comparative analysis. *Clin Oral Impl Res* 2017; 28:742–748.
110. Stefani CM, Nogueira F, Sallum S. Influence of nicotine administration on different implant surface: a histometric study in rabbits. *J Periodontol* 2002; 73:2006-12.
111. Cordioli G, Majzoub Z, Piatelli A, Scarano A. Removal torque and histomorphometric investigation of 4 different titanium surfaces: an experimental study in the rabbit tibia. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2000; 15:668-74.
112. Hall J, Miranda-Burgos P, Sennerby L. Stimulation of directed bone growth at oxidized titanium implants by macroscopic groves: an in vivo study. *Clin Implant Dent Relat Res* 2005;7: 76-82.
113. Balatsouka D, Gotfredsen K, Lindh CH. The impact of nicotine on osseointegration. An experimental study in the femur and tibia of rabbits. *Clin Oral Implants Res* 2005; 16:389-95.
114. Yildiz A, Esen E, Kürkcü M, Damlar I, Daglioglu K, Akova T. Effect of zolendronic acid on osseointegration of titanium implants: an

## BIBLIOGRAFIA

experimental study in an ovariectomized rabbit model. J Oral Maxillofac Surg 2010; 68:515-523.

115. Velasco E, Monsalve-Guil L, Jiménez A, Ortiz I, Moreno-Muñoz J, Nuñez-Marquez E, Pegueroles M, Pérez RA, Gil FJ. Importance of the roughness and residual stresses of dental implants on fatigue and osseointegration behavior. *In vivo* study in rabbits. J Oral Impl 2016; 42: 469-476.

116. Lee HJ, Yang IH, Kim SK, Yeo IS, Kwon TK. *In vivo* comparison between the effects of chemically modified hydrophilic and anodically oxidized titanium surfaces on initial bone healing. J Periodontal Implant Sci 2015; 45:94-100.

117. Salou L, Hoornaert A, Louarn G, Layrolle P. Enhanced osseointegration of titanium implants with nanostructured surfaces: An experimental study in rabbits. Acta Biomaterialia 2015; 11: 494–502.

118. Eliasa CN, Rocha FA, Nascimento AL, Coelho PG. Influence of implant shape, surface morphology, surgical technique and bone quality on the primary stability of dental implants. J Mech Behav Biomed Mater 2012; 16: 169–180.

119. Ramaglia L, Postiglione L, di Spigna G, Capece G, Salzano S, Rossi G. Sandblasted-acid-etched titanium surface influences *in vitro* the biological behavior of SaOS-2 human osteoblast-like cells. Dent Mater J 2011;30:183–192.

120. Le Guéhennec L, Soueidan A, Layrolle P, Amouriq Y. Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. Dent Mater 2007; 23: 844–854.

121. Albrektsson T, Johansson C, Lundgren AK, Sul Y, Gottlow J. Experimental studies on oxidized implants. A histomorphometrical and biomechanical analysis. Appl Osseointegration Res 2000; 1: 21–24.

## BIBLIOGRAFIA

122. Mishra SK, Kumar MA, Chowdhary R. Anodized dental implant surface. *A Indian J Dent Res* 2017; 28:76-99.
123. Burgos PM, Rasmusson L, Meirelles L, Sennerby L. Early bone tissue responses to turned and oxidized implants in the rabbit tibia. *Clin Implant Dent Relat Res* 2008; 10:181–190.
124. Kim H, Choi SH, Ryu JJ, Koh SY, Park JH, Lee IS. The biocompatibility of SLA-treated titanium implants. *Biomed Mater* 2008; 3: 25011.
125. He FM, Yang GL, Li YN, Wang XX, Zhao SF. Early bone response to sandblasted, dual acid-etched and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/HCl treated titanium implants: an experimental study in the rabbit. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2009; 38: 677–681.
126. Kasemo B, Lausmaa J. Selección del metal y características de la superficie. En: Branemark PI, Zarb GA, Albrektsson T. *Prótesis tejido-integradas. La oseointegración en la odontología clínica*. Barcelona: Quintessence. 1999. pag: 99-116.
127. Branemark PI, Breine U, Adell R, Hanson BO, Lindstrom J, Olsson A. Intra-osseus anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. *Scand J Plast Reconstr Surg*. 1969; 3: 81 - 110.
128. Oh TJ, Yoon J, Meraw S, Giannobile WV, Wang HL. Healing and osseointegration of submerged microtextured oral implants. *Clin Oral Implants Res* 2003; 14:643-50.
129. Caneva M, Lang NP, Calvo Guirado JL, Spriano S, Iezzi G, Botticelli D. Bone healing at bicortically installed implants with different surface configurations. An experimental study in rabbits. *Clin Oral Impl Res* 2015; 26: 293–299.

## **BIBLIOGRAFIA**

130. Wennerberg A, Albrektsson T. Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review. Clin Oral Implants Res 2009; 20 (Suppl 4):172-184.
131. Mendonça G, Mendonça DB, Aragao FJ, Cooper LF. Advancing dental implant surface technology -from micron- to nanotopography. Biomaterials 2008; 29: 3822-3835.
132. Orsini E, Salgarello S, Martini D, Bacchelli B, Quaranta M, Pisoni L, Bellei E, Joechler M, Ottani V. Early healing events around titanium implant devices with different surface microtopography: a pilot study in an *in vivo* rabbit model. Sci World J 2012; ID 349842.